

MEDIÇÕES DO TEOR DE OXIGÉNIO EM DIFERENTES FASES DA PRODUÇÃO DE VINHOS

João Falcato Dias Coutinho

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Viticultura e Enologia

Orientador: Doutor Jorge Manuel Rodrigues Ricardo da Silva

Co-orientador: Licenciado Pedro José de Freitas Fernandes Hipólito dos Reis

Júri:

Presidente: Doutor Raul da Fonseca Fernandes Jorge, Professor Associado com
Agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Vogais: Doutor Jorge Manuel Rodrigues Ricardo da Silva, Professor Catedrático do
Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Licenciada Olga Maria Carrasqueira Laureano, Investigadora Coordenadora
do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa, na qualidade
de especialista

Doutor Manuel José de Carvalho Pimenta Malfeito Ferreira, Professor Auxiliar
com Agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Licenciado Pedro José de Freitas Fernandes Hipólito dos Reis, na qualidade
de especialista

Lisboa, 2013

AGRADECIMENTOS

Apresento os meus mais sinceros agradecimentos:

- Ao Professor Jorge Ricardo da Silva, meu orientador sempre disponível e prestável no aconselhamento e na partilha de conhecimentos, que, pacientemente, me guiou neste período;
- Ao Engenheiro Pedro Hipólito, co-orientador deste trabalho, por me ter aceite no estudo que aqui se tratará e pela constante disponibilidade;
- À Adega Cooperativa de Redondo pela cedência das suas instalações, materiais e vinhos para a realização deste estudo;
- À Dr^a. Dora Prezado, chefe do laboratório da Adega Cooperativa de Redondo, pela realização das análises do teor de dióxido de enxofre;
- Aos funcionários da Adega Cooperativa de Redondo que sempre me ajudaram em tudo o que lhes solicitei e que me fizeram sentir sempre bem acolhido, em especial aos senhores Marcelo, Camões e Roberto.
- Aos meus amigos enólogos, em especial a Engenheira Raquel Santos, o Engenheiro Joaquim Bação e o Engenheiro Manuel Ezequiel, pelo ânimo e ajuda na elaboração deste trabalho;
- À minha família, em especial à minha Avó Margarida e aos meus Tios Vanda e Luís;
- E porque os últimos serão os primeiros, à minha querida mulher.

RESUMO

Dado o enorme interesse que a interacção oxigénio-vinho suscita nos enólogos, pareceu-nos da máxima utilidade monitorizar os teores de oxigénio dissolvido desde a fermentação ao engarrafamento de vinhos brancos e tintos. O objectivo era identificar quais os processos responsáveis pela maior introdução de oxigénio dissolvido, para assim atenuar processos oxidativos indesejáveis.

O estudo realizou-se na sua totalidade nas instalações da Adega Cooperativa de Redondo, Alentejo, Portugal.

As medições dos teores de oxigénio dissolvido nos vinhos foram efectuadas usando o método *Luminescent Dissolved Oxygen* (LDO). Este método baseia-se na luminescência de um polímero. É um método isento de calibração, com elevada precisão e grande sensibilidade a baixas concentrações de oxigénio.

Verificou-se que a maior dissolução de oxigénio ocorreu no mosto branco aquando do uso do filtro rotativo de vácuo (8,07 mg/l). Trásfegas acompanhadas de muita turbulência originam altas incorporações de oxigénio dissolvido no vinho (4,07 mg/l num vinho tinto). A estabilização tartárica a frio (1,90 e 2,83 mg/l em vinhos brancos e 1,51 e 3,40 mg/l em vinhos tintos) e o transporte em camião-cisterna (2,22 e 2,69 mg/l em vinhos brancos e 2,33 e 5,86 mg/l em vinhos tintos) são pontos críticos.

Palavras-chave: vinho; medição de oxigénio dissolvido; LDO.

ABSTRACT

Due to the major interest in oxygen-wine interaction by winemakers, it seemed of the most utility to monitorize the contents of dissolved oxygen since the fermentation till the bottling in both white and red wines. The aim was to identify which processes were responsible for the greatest incorporation of dissolved oxygen, in order to minimize undesirable oxidation.

This study was performed in Adega Cooperativa de Redondo, Alentejo, Portugal.

The wine's dissolved oxygen measurements were carried out using the Luminescent Dissolved Oxygen method (LDO). This method is based on the luminescence of a polymer. It is a method that is free from calibration, ensures high precision and it is highly sensitive to low concentrations of oxygen.

The highest dissolution of oxygen (8,07 mg/l) occurred when using vacuum rotative filter on white must. Racking operations accompanied with turbulence generate great dissolved oxygen enrichment (4,07 mg/l in a red wine). Cold tartaric stabilization (1,90 e 2,83 mg/l in white wines and 1,51 e 3,40 mg/l in red wines) and tanker transportation (2,22 e 2,69 mg/l in white wines and 2,33 e 5,86 mg/l in red wines) are also critical points.

Keywords: wine; dissolved oxygen measurement; LDO.

EXTENDED ABSTRACT

Due to the major interest in oxygen-wine interaction by winemakers, it seemed of the most utility to monitorize the contents of dissolved oxygen since the fermentation till the bottling in both white and red wines. The aim was to identify which processes were responsible for the greatest incorporation of dissolved oxygen, in order to avoid undesirable oxidation.

This study was performed in Adega Cooperativa de Redondo, Alentejo, Portugal. The winery has circa 2700 hectares of vineyard and produces between 14 to 15 million bottles per year. With such a high volume of production, this was the ideal place to develop a study that requires a large number of samples.

The dissolved oxygen measurements were carried out using the Luminescent Dissolved Oxygen method (LDO). This method is based on the luminescence of a polymer, and the oxygen concentration is obtained through time. The luminescence is the ability of some materials have to emit light when subjected to a stimulus that is not heat. LDO was chosen since there is need of calibration, ensures high precision, it is highly sensitive to low concentrations of oxygen, it is insensitive to the presence of other chemicals in the medium, it is easy to manipulate and recent studies proved that it is a reliable method.

The highest dissolution of oxygen (8,07 mg/l) occurred when using the vacuum rotative filter on white must, reaching almost the oxygen saturation. Racking operations accompanied with turbulence generate great dissolved oxygen enrichment (4,07 mg/l in a red wine). Cold tartaric stabilization (1,90 e 2,83 mg/l in white wines and 1,51 e 3,40 mg/l in red wines) and tanker transportation (2,22 e 2,69 mg/l in white wines and 2,33 e 5,86 mg/l in red wines) are also critical points in what concerns to oxygen dissolution in white and red wines. During bottling, occasionally in both wines occurred a dissolved oxygen enrichment superior to 1,00 mg/l. In white wines it was registered a maximum value in the vacuum filtration – 8,33 mg/l, and a minimum value during alcoholic fermentation – 0,05 mg/l. In what concerns to red wines, the maximum quantity of dissolved oxygen was measured after tanker transportation – 5,94 mg/l, and the lowest, as in white wines, during the alcoholic fermentation – 0,03 mg/l.

ÍNDICE

Resumo	iii
Abstract	iv
Extended Abstract	v
Lista de Quadros	3
Lista de Tabelas	5
1. Introdução	6
1.1 Oxigénio e vinho	6
1.2 Solubilidade do oxigénio	6
1.3 Oxidação - Oxidação directa do oxigénio e espécies reactivas de oxigénio	8
1.4 Consumo de oxigénio	10
1.4.1 Transformações pré-fermentativas - oxidação enzimática	10
1.4.2 Consumo de oxigénio durante a fermentação alcoólica	12
1.4.3 Oxidação não-enzimática	15
1.4.4 Consumo de oxigénio durante a maturação/conservação	16
1.5 Factores que influenciam o consumo de oxigénio no vinho	18
1.6 Métodos de medição de oxigénio dissolvido	21
1.6.1 Método Polarográfico	21
1.6.2 Método LDO	22
1.7 Prevenção da oxidação	24
1.8 Objectivo	25
2. Material e métodos	27
2.1 Adega	27
2.2 Aparelho de medição de oxigénio	27
2.3 Equipamentos Enológicos	28
2.4 Delineamento experimental	28
2.5 Teor de dióxido de enxofre livre e total	36
2.6 Análise estatística	36
3. Resultados e discussão de resultados	37
3.1 Vinho branco	37
3.1.1. Recepção até ao início da fermentação alcoólica	37
3.1.2. Fermentação alcoólica	38
3.1.3 Trásfegas	38

3.1.4	Colagem	39
3.1.5	Transporte em camião-cisterna	40
3.1.6.	Estabilização	46
3.1.7	Filtração Tangencial	47
3.1.8	Engarrafamento	44
3.1.8.1	Bag-in-box	44
3.1.8.2.	Garrafa	46
3.2	Vinho tinto	48
3.2.1.	Recepção e fermentações	48
3.2.2.	Trasfegas	51
3.2.3.	Estágio em barricas	52
3.2.3.1	Atesto de barricas	52
3.2.3.2	Aplicação de dióxido de enxofre	53
3.2.4.	Transporte em camião-cisterna	53
3.2.5.	Estabilização	55
3.2.6.	Filtração tangencial	56
3.2.7	Engarrafamento	57
3.2.7.1	Bag-in-box	57
3.2.7.2	Garrafa	59
3.3	Balanço geral	62
4.	Conclusão	64
	Bibliografia	66

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A – Gráficos com variação de oxigenio dissolvido em vinho branco

Fig. A. 1 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido desde a recepção de uvas brancas até ao início da fermentação alcoólica.	II
Fig. A. 2 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido durante a fermentação alcoólica em mosto proveniente de uvas brancas.	II
Fig. A. 3 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido na trasfega de vinho branco 1.	III
Fig. A. 4 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido na colagem de vinho branco 2 no dia 1 e 2.	III
Fig. A. 5 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido no transporte de vinho branco 3 e 4 em camião cisterna.	IV
Fig. A. 6 – Grafico com valores médios de oxigénio dissolvido na estabilização tartárica de vinho branco 5 e 6.	IV
Fig. A. 7 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido na filtração tangencial de vinho branco 7 e 8.	V
Fig. A. 8 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido no acondicionamento de vinho branco 9 e 10 em bag-in-box.	V

Fig. A. 9 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido nas operações que antecedem o engarrafamento de vinho branco 11.	VI
Fig. A. 10 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido e tabela com dióxido de enxofre livre e total medidos 7, 30 e 60 dias após o engarrafamento, na fase inicial, de vinho branco 11.	VI
Anexo B - Gráficos com variação de oxigenio dissolvido em vinho tintos	
Fig. B. 1 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido medido em mostos de uvas tintas provenientes de vindima mecânica e manual.	VII
Fig. B. 2 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido durante a fermentação alcoólica em mosto tinto 1 proveniente de uvas tintas.	VII
Fig. B. 3 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido durante a fermentação alcoólica em mosto tinto 2 proveniente de uvas tintas em distintas zonas da cuba e distintos períodos.	VIII
Fig. B. 4 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido durante a fermentação maloláctica de vinho tinto 1.	VIII
Fig. B. 5 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido numa trasfega de longa distância de um vinho tinto 2 (a) e por gravidade de um vinho tinto 3 (b).	IX
Fig. B. 6 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido em vinho tinto 4 e 5 armazenado em barricas de carvalho 700 l. em repouso e após o seu atesto (a) e em vinho tinto 6 armazenado em barricas de carvalho 300 l. em repouso e após aplicação de dióxido de enxofre (b).	IX
Fig. B. 7 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido no transporte de vinho tinto 7 e 8 em camião cisterna.	X
Fig. B. 8 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido na estabilização tartárica de vinho tinto 9 e 10.	X
Fig. B. 9 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido na filtração tangencial de vinho tinto 11 e 12.	XI
Fig. B. 10 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido no acondicionamento de vinho tinto 13, 14 e 15 em bag-in-box.	XI
Fig. B. 11 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido nas operações que antecedem o engarrafamento de vinho tinto 16.	XII
Fig. B. 12 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido e dióxido de enxofre livre e total medidos 5, 12, 30 e 60 dias após o engarrafamento, na fase inicial, de vinho tinto 16.	XII

LISTA DE QUADROS

Quadro I – Oxigénio dissolvido desde a receção de uvas brancas até ao início da fermentação alcoólica.

Quadro II – Oxigénio dissolvido durante a fermentação alcoólica em mosto proveniente de uvas brancas.

Quadro III - Oxigénio dissolvido na trasfega de vinho branco 1.

Quadro IV – Oxigénio dissolvido na colagem de vinho branco 2 no dia 1.

Quadro V – Oxigénio dissolvido na colagem de vinho branco 2 no dia 2.

Quadro VI – Oxigénio dissolvido no transporte de vinho branco 3 em camião cisterna.

Quadro VII – Oxigénio dissolvido no transporte de vinho branco 4 em camião cisterna.

Quadro VIII – Oxigénio dissolvido na estabilização tartárica de vinho branco 5.

Quadro IX – Oxigénio dissolvido na estabilização tartárica de vinho branco 6.

Quadro X – Oxigénio dissolvido na filtração tangencial de vinho branco 7.

Quadro XI – Oxigénio dissolvido na filtração tangencial de vinho branco 8.

Quadro XII – Oxigénio dissolvido no acondicionamento de vinho branco 9 em bag-in-box.

Quadro XIII – Oxigénio dissolvido no acondicionamento de vinho branco 10 em bag-in-box.

Quadro XIV – Oxigénio dissolvido nas operações que antecedem o engarrafamento de vinho branco 11.

Quadro XV – Oxigénio dissolvido e dióxido de enxofre livre e total medidos 7, 30 e 60 dias após o engarrafamento, na fase inicial, de vinho branco 11.

Quadro XVI – Oxigénio dissolvido e dióxido de enxofre livre e total medidos 7, 30 e 60 dias após o engarrafamento, na fase intermédia, de vinho branco 11.

Quadro XVII – Oxigénio dissolvido e dióxido de enxofre livre e total medidos 7, 30 e 60 dias após o engarrafamento, na fase final, de vinho branco.

Quadro XVIII – Oxigénio dissolvido medido em mostos de uvas tintas provenientes de vindima mecânica e manual.

Quadro XIX – Oxigénio dissolvido durante a fermentação alcoólica em mosto tinto 1 proveniente de uvas tintas.

Quadro XX – Oxigénio dissolvido durante a fermentação alcoólica em mosto tinto 2 proveniente de uvas tintas em distintas zonas da cuba e distintos períodos.

Quadro XXI – Oxigénio dissolvido durante a fermentação alcoólica em mosto tinto 3 proveniente de uvas tintas em distintas zonas da cuba e distintos períodos.

Quadro XXII – Oxigénio dissolvido durante a fermentação maloláctica de vinho tinto 1.

Quadro XXIII – Oxigénio dissolvido numa trasfega de longa distância de um vinho tinto 2.

Quadro XXIV – Oxigénio dissolvido numa trasfega por gravidade de um vinho tinto 3.

Quadro XXV – Oxigénio dissolvido em vinho tinto 4 armazenado em barricas de carvalho Vicard 700 l. em repouso e após o seu atesto.

Quadro XXVI – Oxigénio dissolvido em vinho tinto 5 armazenado em barricas de carvalho Demptos 300 l. em repouso e após o seu atesto.

Quadro XXVII – Oxigénio dissolvido em vinho tinto 6 armazenado em barricas de carvalho Demptos 300 l. em repouso e após aplicação de dióxido de enxofre.

Quadro XXVIII – Oxigénio dissolvido no transporte de vinho tinto 7 em camião cisterna.

Quadro XXIX – Oxigénio dissolvido no transporte de vinho tinto 8 em camião cisterna.

Quadro XXX – Oxigénio dissolvido na estabilização tartárica de vinho tinto 9.

Quadro XXXI – Oxigénio dissolvido na estabilização tartárica de vinho tinto 10.

Quadro XXXII – Oxigénio dissolvido na filtração tangencial de vinho tinto 11.

Quadro XXXIII – Oxigénio dissolvido na filtração tangencial de vinho tinto 12.

Quadro XXXIV - Oxigénio dissolvido no acondicionamento de vinho tinto 13 em bag-in-box.

Quadro XXXV – Oxigénio dissolvido no acondicionamento de vinho tinto 14 em bag-in-box.

Quadro XXXVI – Oxigénio dissolvido no acondicionamento de vinho tinto 15 em bag-in-box.

Quadro XXXVII – Oxigénio dissolvido nas operações que antecedem o engarrafamento de vinho tinto 16.

Quadro XXXVIII – Oxigénio dissolvido e dióxido de enxofre livre e total medidos 5, 12, 30 e 60 dias após o engarrafamento, na fase inicial, de vinho tinto 16.

Quadro XXXIX – Oxigénio dissolvido e dióxido de enxofre livre e total medidos 5, 12, 30 e 60 dias após o engarrafamento, na fase intermédia, de vinho tinto 16.

Quadro XL – Oxigénio dissolvido e dióxido de enxofre livre e total medidos 5, 12, 30 e 60 dias após o engarrafamento, na fase final, de vinho tinto 16.

Quadro XLI – Balanço geral da incorporação de oxigénio ao longo da vinificação e conservação de vinhos brancos.

Quadro XLII – Balanço geral da incorporação de oxigénio ao longo da vinificação e conservação de vinhos tintos.

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1 – Esquema da redução do oxigénio (adaptado de Waterhouse and Laurie, 2006).

Fig. 2 – Esquema da autooxidação de compostos orgânicos.

Fig. 3 – Esquema do mecanismo de oxidação do mosto de uvas sãs pela tirosinase e de mosto de uvas botrytrizadas pela lacase; (1) - Ácido hidroxícinnâmico, (2) – Quinona, (3) – Ácido 2-S-glutationilcátfárico, (4) – Quinona, (In Ribéreau-Gayon et al. 2006a adaptado de Salgues, 1986).

Fig. 4 – Síntese de ergosterol (a) e ácidos gordos (b), em leveduras (Adaptado de Zamora (2009)).

Fig. 5 – Esquema de oxidação de compostos fenólicos com redução do oxigénio e oxidação do etanol. Hipótese da redução directa da oxidação do ião ferroso (1). Oxidação mediada pelo ião ferroso, iniciada pela formação de espécies reactivas de oxigénio (2). (adaptado de Karbowiak et al. 2010).

Fig. 6 – Sonda LDO, modelo HQ30d da marca Hach Lange.

Fig. 7 – Esquema do delineamento experimental da vinificação de vinhos brancos.

Fig. 8 – Esquema do delineamento experimental da vinificação de vinhos tintos.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Oxigénio e vinho

“O oxigénio é o pior inimigo do vinho. É o oxigénio que faz o vinho e é por sua influência que ele envelhece” (Pasteur, 1873).

Apesar de ser um lugar comum em trabalhos que tratam deste tema, cremos que a citação de Pasteur demonstra cabalmente os sentimentos que o oxigénio desperta naqueles que lidam com o vinho – é necessário para a sua elaboração, mas em excesso poderá ser nefasto.

Comummente se acredita que uma intensa oxidação é prejudicial para o vinho, mas uma lenta e contínua dissolução de oxigénio no vinho pode ser benéfica para o seu envelhecimento. Prova máxima disso está patente na tradicional utilização de barricas de carvalho. Numa versão mais contemporânea, o uso da microoxigenação.

1.2 Solubilidade do Oxigénio

O oxigénio é muito pouco solúvel em água. A 25°C e com uma pressão de 1 atm, a quantidade máxima de oxigénio que se consegue dissolver em água é 8,5 mg. Vidal & Moutounet (2008) referem um valor de saturação de 8,4 mg/l de oxigénio dissolvido. Estes dois valores estão em consonância com o valor enunciado por Singleton (1987), 8 mg/l.

A concentração em oxigénio dissolvido num líquido em equilíbrio com uma fase gasosa, de composição e pressão conhecidas, é dada, visto que se trata de um gás pouco solúvel, pela Lei de Henry:

$$PO_2 = H.C^*$$

Em que PO_2 é a pressão parcial do oxigénio no gás, C^* é a concentração de oxigénio em equilíbrio, ou seja, a sua solubilidade e H é a constante de Henry para o oxigénio. A constante de Henry é obtida em função da temperatura e da natureza do líquido. (Riba, 1990).

A solubilidade do oxigénio é favorecida pelas baixas temperaturas. A pressão constante, a concentração em oxigénio dissolvido desce exponencialmente com o aumento da temperatura, ao passo que aumenta proporcionalmente com o aumento da pressão. A solubilidade do oxigénio no vinho aumenta aproximadamente 10% quando a temperatura ronda os 5°C.

Assim que um gás é posto em contacto com uma fase líquida, assiste-se à sua difusão progressiva. Essa difusão ou dissolução ocorre até que é atingido o ponto de saturação para as condições de temperatura e pressão daquele meio. A Lei de Fick é uma lei de dissolução que nos dá a velocidade da dissolução de um gás.

$$dc/dt = k_1 \cdot a \cdot (C - C_i)$$

Onde k_1 é o coeficiente volúmico de transferência da matéria, a é a superfície específica de interface gás/líquido, expressa em m^2/m^3 , C é a concentração do gás em equilíbrio (ligado à pressão parcial pela Lei de Henry) e C_i é a concentração do gás inicial dissolvido. A Lei de Fick é essencialmente dependente da superfície de contacto gás/líquido e da concentração inicial do gás existente no líquido (Vidal & Moutounet, 2008).

A dissolução do oxigénio depende de três factores: temperatura, pressão e turbulência e área de superfície.

Quanto mais baixa for a temperatura, maior será a dissolução de oxigénio na solução.

O aumento da pressão leva a uma maior dissolução do gás na solução. Moutounet & Mazauric (2001) afirmam que se a pressão duplicar, então a pressão parcial do oxigénio bem como a concentração de equilíbrio no líquido serão multiplicadas por dois.

Um elevado grau de turbulência na superfície do vinho ou uma elevada área superficial da interface vinho/ar, como na situação em que o ar é borbulhado através do vinho, provoca uma dissolução mais rápida do oxigénio (Mira-do-Ó, 2002). O mesmo autor, citando Allen (1994), ressalva que a quantidade total de oxigénio dissolvido não é afectada, a saturação é que é atingida mais rapidamente.

1.3 Oxidação - Oxidação directa do oxigénio e espécies reactivas de oxigénio

A oxidação é uma reacção na qual um átomo ou uma molécula perde um electrão, podendo ocorrer ou não a adição de oxigénio e perda de hidrogénio (Waterhouse and Laurie, 2006). Oxigénio, além de denominar o elemento químico, designa também a molécula diatómica de oxigénio O_2 . No estado fundamental esta molécula tem nas orbitais moleculares dois electrões desemparelhados com o mesmo spin, de forma a ter o estado de mais baixa energia. O oxigénio no estado fundamental, que se denomina triplete, é uma molécula muito estável e pouco reactiva em comparação com radicais. Contudo não é uma molécula inerte podendo através do ganho sucessivo de electrões formar espécies muito reactivas. No meio líquido vinho a redução do oxigénio a triplete é bastante improvável na ausência de luz, no entanto pode ocorrer devido à catálise do ferro (Danilewicz, 2003, du Toit et al., 2006; Waterhouse & Laurie, 2006). O oxigénio pode-se converter na sua forma excitada, o singleto (1O_2), que apesar de não ser um radical livre, é muito reactiva e electrofílica (Fig.1). Através do ganho de outro electrão através, por exemplo da oxidação de um composto metálico, pode formar o radical anião superóxido $O_2^{\bullet-}$. Devido ao pH do vinho, este existirá na forma protonada formando o radical hidropéroxido (HO_2^{\bullet}) (Fig.1). Por adição de outro electrão forma-se o anião peróxido (O_2^{2-}), que tal como a espécie anterior é protonado devido ao pH do vinho. A espécie formada, o peróxido de hidrogénio (H_2O_2), não é um radical (Fig.1) (Danilewicz, 2003), no entanto é o precursor de outra espécie muito reactiva, o radical hidróxilo (HO^{\bullet}). Devido à presença do ião ferro podem também ocorrer reacções de Fenton ou de Haber-Weiss, através das quais se geram radicais hidroxilos (OH^{\bullet}) ou hidróxido (OH^-). O peróxido de hidrogénio pode resultar na produção de espécies de oxigénio muito reactivas a partir de precursores pouco reactivos (Danilewicz 2003).

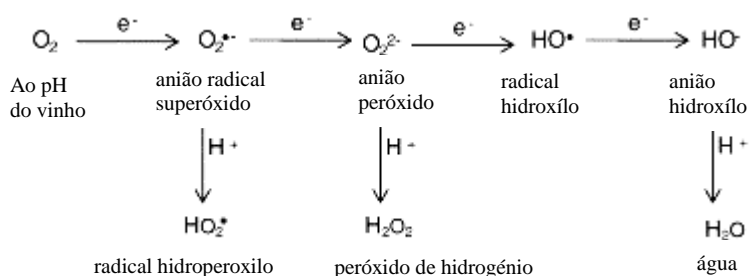


Fig. 1 – Esquema da redução do oxigénio (adaptado de Waterhouse and Laurie, 2006).

A Figura 1 esquematiza a formação das espécies derivadas do oxigénio tripleto que se designam genericamente, por espécies de oxigénio reactivas (*reactive oxygen species* - ROS). Neste grupo englobam-se os radicais (anião superóxido, hidroperóxido, hidroxilo, peróxido, alcóxido) e as outras espécies com elevado potencial de oxidação ou que são facilmente convertidas em radicais, como por exemplo peróxido de hidrogénio, ozono e o oxigénio singleto. A reactividade destas espécies de oxigénio aumenta à medida que o nível de redução aumenta: tripleto <superóxido <radical hidroperóxido <anião peróxido <radical hidroxilo. Estas espécies reactivas estão envolvidas em múltiplos mecanismos de oxidação através de reacções em cadeia com diferentes substratos orgânicos, como radicais lípidos ou oxigénio, que levam a danos oxidativos (Karbowiak et al. 2010).

Autooxidação refere-se à reacção autocatalítica entre oxigénio atmosférico e compostos orgânicos, que é descrito como um processo de três passos: iniciação, propagação e terminação. A iniciação caracteriza-se pela formação de novos radicais livres, a partir de espécies estáveis. Na propagação os radicais livres podem renegerar-se, resultando em diversos compostos de oxidação. A reacção termina quando os radicais livres se combinam com outros radicais livres ou moléculas antioxidantes, dando origem a produtos não radicalares - terminação (Fig. 2).

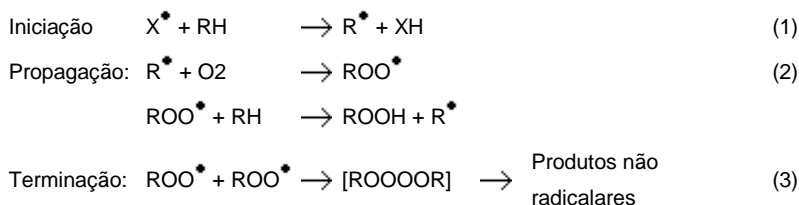


Fig. 2 – Esquema da autooxidação de compostos orgânicos.

A formação de espécies de oxigénio reactivas é necessária para compreender a forma como o oxigénio pode iniciar os processos de oxidação do vinho. Por este motivo a introdução de oxigénio no vinho pode levar a formação de composto com grande capacidade de redução (Karbowiak et al. 2010).

1.4 Consumo de oxigénio

1.4.1 Transformações pré-fermentativas - oxidação enzimática

No período que antecede a fermentação alcoólica são várias as enzimas que actuam sobre o mosto. As que apresentam actividade enzimática mais intensa são: as oxidoredutases, as enzimas implicadas na formação de álcoois e aldeídos em C₆, as pectolíticas (pectinases), as celulásicas, as hemicelulásicas, as glicosidases e as proteolíticas (proteases).

Para este presente trabalho interessa aprofundar a actividade das oxidoredutases. Deste grupo fazem parte a tirosinase e a lacase, o seu substrato são os compostos fenólicos e como principal consequência da sua acção destaca-se o acastanhamento dos vinhos brancos.

A tirosinase existe naturalmente na uva, localizando-se sobretudo nos cloroplastos das células da polpa e da película. Para que esta enzima seja activa, tem que acontecer a ruptura celular de forma a que a enzima, os compostos fenólicos e o oxigénio fiquem em contacto. Esta enzima oxida preferencialmente os derivados hidroxicinâmicos (compostos fenólicos mais abundantes nas uvas brancas – ácido caftárico, ácido coutárico e ácido fertárico), formando quinonas. Estas quinonas são instáveis e podem seguir duas vias: 1) condensar-se com outros compostos fenólicos e formar polímeros acastanhados ou 2) reagir com a glutatona, produzindo um novo composto incolor, o ácido 2-S-glutationilcaftárico – GRP (*Grape Reaction Product*) (Figura 3). O GRP não é substrato da tirosinase e não altera a cor do vinho. Porém o GRP, na presença de um excesso de quinonas de ácido caftárico, pode ser oxidado por um mecanismo de oxidação acoplado que leva ao aparecimento da orto-quinona de GRP. A actividade da tirosinase é inibida sobretudo pelo dióxido de enxofre (é desnaturada com uma adição superior a 50 mg de SO₂ por litro de mosto/vinho),

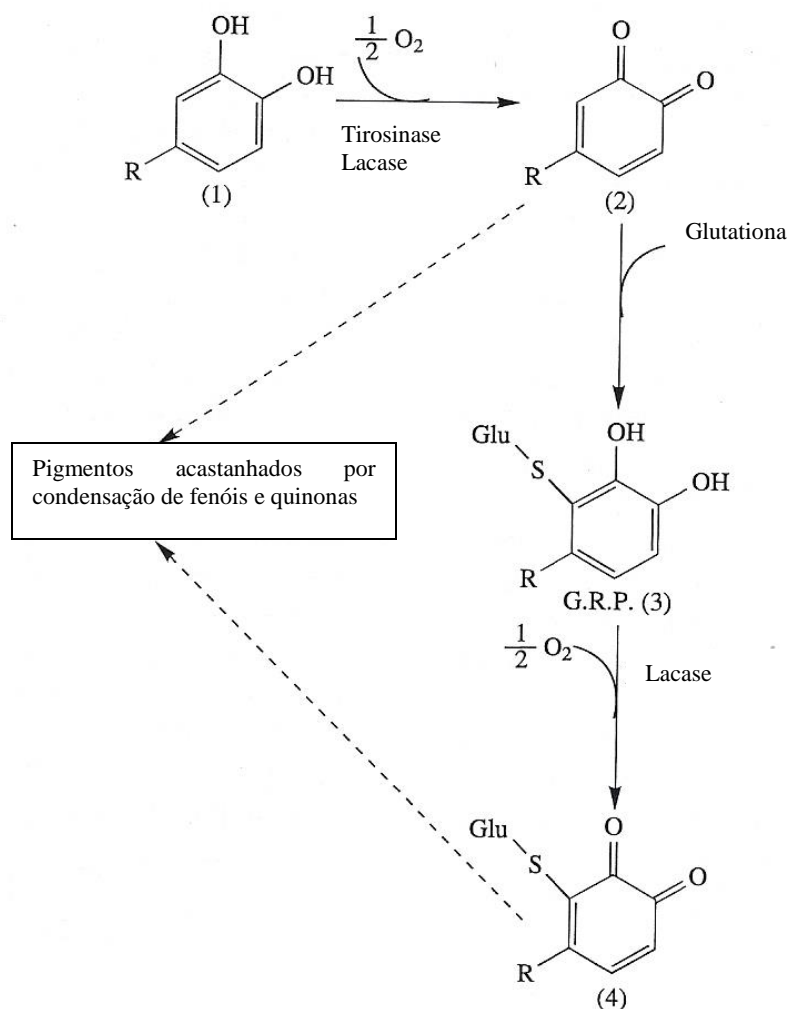


Fig. 3 – Esquema do mecanismo de oxidação do mosto de uvas sãs pela tirosinase e de mosto de uvas botrytrizadas pela lacase; (1) - Ácido hidroxicinâmico, (2) – Quinona, (3) – Ácido 2-S-glutationilcátfárico, (4) – Quinona, (In Ribéreau-Gayon et al. 2006a adaptado de Salgues, 1986).

O GRP pode ser oxidado pela lacase (enzima de *Botrytis cinerea*), muito provável de existir em mostos provenientes de uvas podres. A lacase é menos específica que a tirosinase, mas com maior potencial redutor e menos inibida pelo SO_2 . A lacase é capaz de oxidar o GPR a quinona. A glutathione, nessas condições, não consegue fixar a quinona e mais produtos acastanhados são formados por esta via (Figura 3).

As cinéticas de oxidação dos derivados hidroxicinâmicos em presença da tirosinase e do oxigênio, depende da relação glutathione/derivados hidroxicinâmicos. Se a relação for superior ou igual a 1, todas as orto-quinonas combinam-se à glutathione, formando GRP; não há oxidações acopladas, nem acastanhamento do mosto. Se a relação for inferior a 1, existe um déficit de glutathione, o GRP atinge um máximo; há oxidações acopladas: o

GRP é oxidado pelas orto-quinonas livres, os derivados hidroxicinâmicos são regenerados, acumulam-se as orto-quinonas, ocorre acastanhamento do mosto.

A taxa de consumo de oxigénio nas uvas podres não é maior do que a observada em uvas sãs, embora a acção do dióxido de enxofre seja mais lenta nas primeiras. As uvas contaminadas contêm outras oxidases (glucose-oxidase, amino-oxidase, etc), que são consumidoras de oxigénio (Ribéreau-Gayon et al, 2006a).

1.4.2 Consumo de oxigénio durante a fermentação alcoólica

Durante a fermentação do mosto, as *Saccharomyces cerevisiae*, não necessitam de oxigénio para a obtenção de energia (Zamora, 2009). No entanto, na fase de crescimento, na qual ocorre a multiplicação das células, as leveduras necessitam de sintetizar grandes quantidades de esteróis, ácidos gordos e fosfolípidos para a formação da sua membrana plasmática. A síntese destes compostos ocorre por mecanismos biossintéticos que utilizam o oxigénio como substrato (Fig. 4) (Zamora, 2009).

A síntese dos esteróis ocorre pelo mecanismo de reacções chamados via do mevalonato. O passo principal deste mecanismo ocorre quando o esqualeno é transformado em 2,3-epóxi-esqualeno catalisado pela esqualeno-monoxigenase que utiliza o oxigénio como substrato. De seguida a epoxi-esqualeno-lanosterol-ciclase catalisa a síntese do lanosterol, que é por sua vez utilizado para produzir o ergosterol (Zamora, 2009). Este é o principal esteroide destas leveduras e sem a presença de oxigénio este mecanismo é totalmente bloqueado, sendo a sua síntese impossível (Zamora, 2009).

A síntese de ácidos gordos ocorre por um processo complexo catalisado pelo complexo multienzimático, ácidos gordos sintetase. A produção de ácido palmítico é feita utilizando acetil-coA e malonyl-coA como substratos. A partir deste ácido gordo saturado são produzidos outros ácidos gordos, como o ácido esteárico que ocorre pelo alongamento do ácido palmítico. A produção de ácidos gordos insaturados ocorre por catálise da desaturase OLE1, cuja activação depende de temperaturas baixas e da presença de oxigénio. Por sua vez os ácidos gordos são utilizados na produção de fosfolípidos para a membrana plasmática.

Devido à necessidade de oxigénio para a produção de ergosterol e ácidos gordos insaturados, a presença de oxigénio durante a fermentação alcoólica pelas *Saccharomyces cerevisiae* é indispensável. Por este motivo a quantidade de oxigénio presente nesta fase limita o crescimento das leveduras, sendo, por isso, recomendado o arejamento do mosto durante a fase de crescimento de modo a permitir a formação das membranas das leveduras e evitar problemas durante a fermentação (Zamora, 2009). Zamora (2009) propõe dois esquemas para ilustrar a síntese de ergosterol e a síntese de ácidos gordos nas leveduras (Fig. 4).

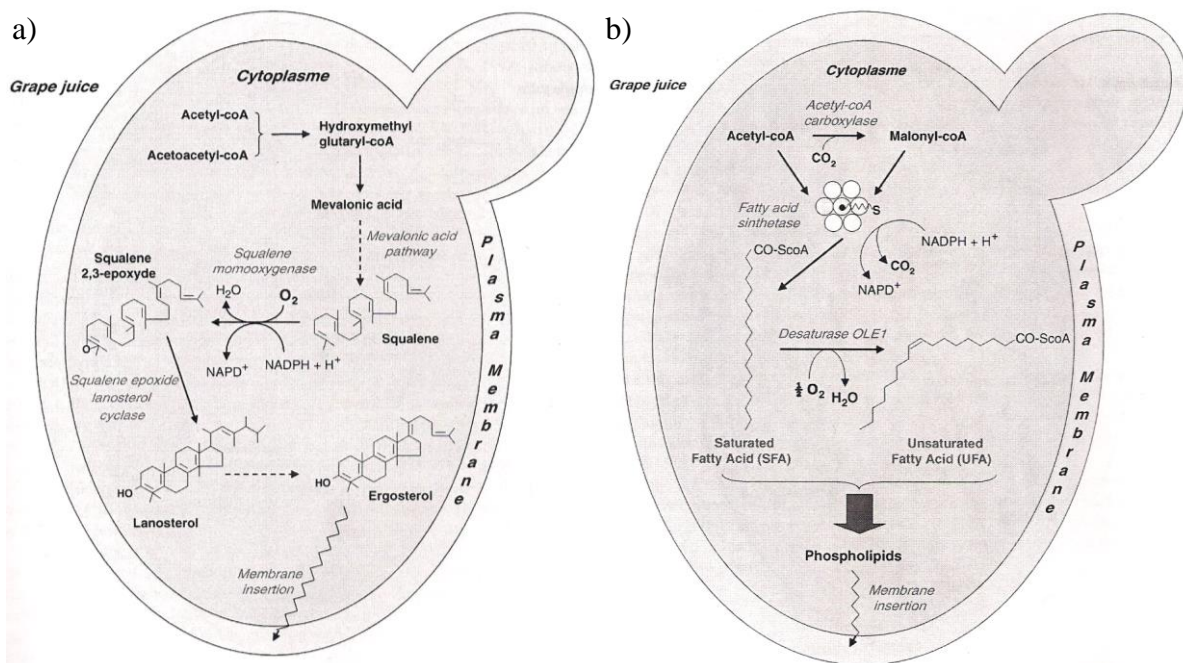


Fig. 4 – Síntese de ergosterol (a) e ácidos gordos (b), em leveduras (Adaptado de Zamora (2009)).

Salblayrolles & Barre (1986) demonstram que são necessários 10 a 20 mg L⁻¹ de oxigénio para uma regular fermentação alcoólica em mostos. As taxas de absorção de oxigénio em mostos variam entre 0.5 a 4.6 mg L⁻¹ min⁻¹ a 25°C, sendo em média 2 mg L⁻¹ min⁻¹, mas podem aumentar quando estão envolvidos fenómenos de oxidação. Quando tal acontece, o oxigénio dissolvido atinge valores entre 4,3 e 28,2 mg/L. (Silva & Lambri, 2006). Ribéreau-Gayon et al. (2006a) consideram que o oxigénio tem um impacto considerável na cinética da fermentação do vinho e que a adição de oxigénio é provavelmente o método mais eficaz para o enólogo controlar a fermentação do mosto. Na maceração, o consumo de oxigénio pode-se dever às partículas em suspensão (leveduras e películas) e às substâncias dissolvidas no mosto (Silva & Lambri, 2006).

Riba (1990) afirma que na maceração e fermentação alcoólica estão presentes sistemas químicos e microbiológicos tomadores de oxigénio; particularmente as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e os compostos fenólicos.

Ribéreau-Gayon (1961) verificou o efeito do oxigénio na fermentação alcoólica, confirmando que a velocidade da reacção aumenta com a quantidade de oxigénio introduzido. Também foi verificado que o momento em que o oxigénio é adicionado se reveste de particular importância. O oxigénio deve ser adicionado no segundo dia após o início da fermentação, durante a fase de crescimento das leveduras. Outros trabalhos provaram que as leveduras usam o oxigénio sobretudo nas primeiras fases da fermentação. As leveduras não beneficiam com introdução de oxigénio em estados mais avançados da fermentação, em que a concentração de álcool é já elevada (Ribéreau-Gayon et al., 2006a).

São vários os benefícios que a presença de oxigénio poderá provocar nos mostos:

- só em condições aeróbicas é que as leveduras produzem lípidos da membrana (Valero et al., 2001);
- um correcto manejo do teor de oxigénio aumenta a tolerância das leveduras ao etanol e a sua viabilidade, pois promove a síntese de esteróis, que têm um papel fundamental na fluidez da membrana e na actividade das enzimas membranárias (Valero et al., 2001);
- além da já citada resistência ao etanol, du Toit et al. (2006) também concluíram que o oxigénio aumenta a actividade fermentativa, ao mesmo tempo que diminui a síntese de compostos sulfurados e o tempo da fermentação alcoólica.

Já Salmon (2006) enuncia que a quantidade de oxigénio necessária para o crescimento das leveduras é de 5-10 mg/L. Segundo este autor o oxigénio só favorece a síntese de esteróis e ácidos gordos insaturados em condições estritamente anaeróbias. O oxigénio é consumido numa série de outras vias metabólicas e, qualquer que seja essa via, o consumo do oxigénio leva sempre a uma oxidação parcial dos esteróis (sobretudo do ergosterol).

Em condições enológicas, quando mais oxigénio ou esteróis exógenos estão disponíveis durante o crescimento, a síntese de esteróis contribui pouco no consumo de oxigénio (Salmon et al., 1998). Tal facto sugere que existem outras vias funcionais de consumo de oxigénio nas leveduras durante a fermentação alcoólica. Mais oxigénio do que requerido pelas células para a síntese de esteróis pode, normalmente, estar presente. Nessas condições, a maior parte do oxigénio em excesso é consumido pelas

leveduras para o funcionamento parcial de algumas vias não-respiratórias consumidoras de oxigénio (Salmon, 2006).

Fornairon-Bonnefond et al. (2003) verificaram que a introdução em excesso de oxigénio na fermentação alcoólica, além de estimular a síntese de ergosterol, leva a uma degradação do próprio ergosterol, degradação essa dependente do oxigénio.

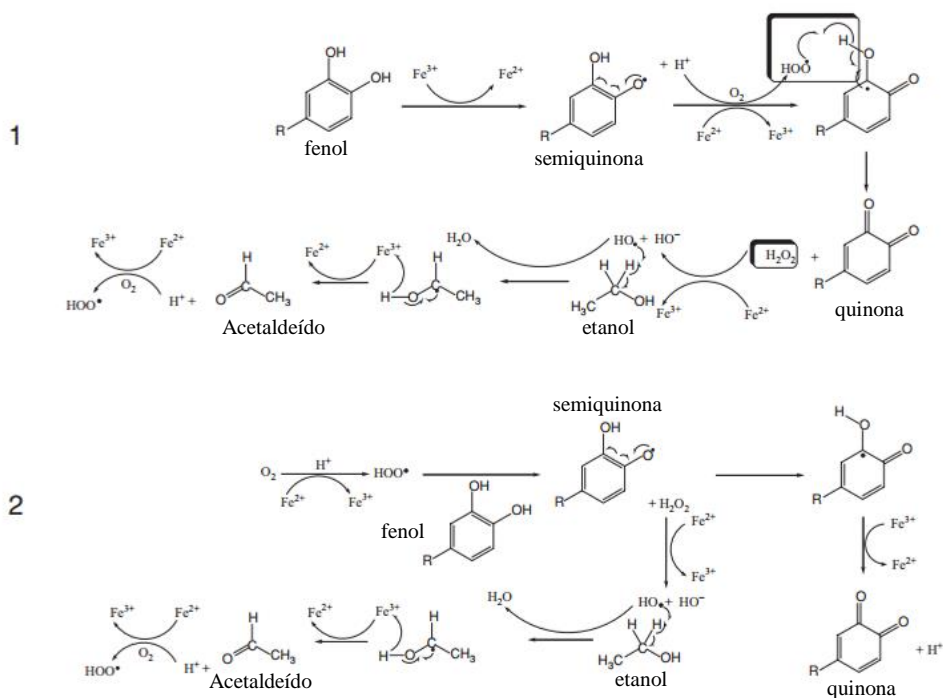
Salmon (2006) propõe que o oxigénio consumido numa fermentação alcoólica de vinho tem os seguintes destinos (aproximadamente): 0% na cadeia respiratória, 35% na síntese de esteróis, 4% na síntese de ácidos gordos insaturados, 30% em vias oxidativas e 46% noutras vias. O autor afirma que a inexistência de cadeia respiratória durante a fermentação de vinho se pode dever às altas concentrações de açúcar.

1.4.3 Oxidação não enzimática

O vinho tem na sua composição diversos compostos que podem ser oxidados como iões ferroso (Fe^{2+}), sulfitos, ácido ascórbico, fenóis e etanol (Boulton et al., 1999). Os compostos fenólicos são os primeiros a ser oxidados na presença do oxigénio, iniciando o processo oxidativo, sendo a capacidade de reacção do vinho ao oxigénio dependente da sua concentração (Boulton et al., 1999, Karbowiak et al. 2010). Todos os tipos de compostos fenólicos existem em maior quantidade no vinho tinto que no vinho branco. O processo de oxidação pode iniciar-se por duas formas como esquematizado na Figura 5. A primeira hipótese consiste na oxidação directa do fenol mediada pelo metal de transição, neste caso o ferro, que passa do estado de oxidação 2+ a 3+. Através de sucessivas reacções de redução das espécies de oxigénio, novamente através da perda de electrão do ião ferroso, formam-se espécies reactivas do oxigénio. Devido à elevada concentração de etanol no vinho este pode ser oxidado pelas espécies reactivas de oxigénio, formando acetaldeído e gerando um novo radical peróxido de hidrogénio (Karbowiak et al. 2010).

Pode iniciar-se pela oxidação do Fe^{+2} e redução do oxigénio a peróxido de hidrogénio, que por sua vez oxida o fenol transformando-o no radical semi-quinona (Boulton et al., 1999, Danilewicz, 2003). As quinonas são compostos electrofílicos reactivos que se combinam com os compostos nucleofílicos do vinho, como os compostos sulfidril, com polifenóis e certas aminas (Boulton et al., 1999). O composto polimérico desta reacção recombina-se num processo semelhante à enolização, sendo o ortho-dihidroxifenil renegerado para outros ciclos de oxidação (Boulton et al., 1999).

Os acetaldéidos podem também ter um papel importante na evolução do vinho relacionada com os compostos fenólicos e o oxigénio, através do favorecimento da reacção entre flavenóides e antocianinas, formando novos polifenóis através de reacções de polimerização (Oliveira et al. 2011). Alguns deste compostos polimerizados são importantes na estabilização da cor nos vinhos tintos.



Esquema de oxidação de compostos fenólicos com redução do oxigénio e oxidação do etanol. Hipótese da redução directa da oxidação do ião ferroso (1). Oxidação mediada pelo ião ferroso, iniciada pela formação de espécies reactivas de oxigénio. (adaptado de Karbowiak et al. 2010).

1.4.4 Consumo de oxigénio durante a maturação/conservação

De uma forma geral, pode-se afirmar que qualquer que seja a operação enológica, irá sempre ocorrer incorporação de oxigénio na solução. Processos como transportes, trasfegas, misturas, etc. fazem o vinho entrar em contacto com o oxigénio do ar numa forma superior àquela a que o oxigénio pode ser absorvido (Salmon, 2006).

Apesar da apreensão que causa o tema da oxigenação dos vinhos, deve-se ter em conta que até certo ponto poderá ser benéfica para a qualidade dos vinhos. São muitos os trabalhos que referem que uma moderada oxigenação melhora a qualidade dos vinhos. Atanasova et al. (2002) afirmam que uma suave oxidação dos compostos fenólicos pode dar produtos mais colorados e menos adstringentes.

O vinho apresenta uma enorme capacidade de absorção de oxigénio. Singleton (1982) indica que essa capacidade se situa entre 80 mg/l para os vinhos brancos comuns e 800 mg/l para vinhos tintos carregados. Moutounet & Mazauric (2001) mediram, num vinho da casta Tannat, um consumo acumulado de 1087 mg por litro de vinho. É estimado que uma normal vinificação e maturação em barricas leva a uma incorporação de 20 ml de oxigénio por litro de vinho no primeiro ano e cerca de metade ou mais desse valor nos anos seguintes, sem esquecer uma quantidade adicional de oxigénio no engarrafamento e operações que o antecedem (Boulton et al, 1996).

Durante algum tempo, considerou-se que os principais responsáveis pelo consumo de oxigénio no vinho seriam os compostos fenólicos. Em 1999, com o trabalho de Fornairon et al., constatou-se que as borras de leveduras também consumiam oxigénio. Quando presentes no vinho, o consumo de oxigénio por parte das leveduras é superior ao dos compostos fenólicos. Esta diferença de reactividade leva a uma limitação da oxidação dos polifenóis e trava assim a evolução dos vinhos (Moutounet & Mazauric, 2001). Estas borras podem consumir oxigénio durante pelo menos 3 anos (Fornairon et al, 1999). Este consumo de oxigénio por parte das borras vai diminuindo de intensidade ao longo do tempo, mas as borras poderão ser as responsáveis pelo total desaparecimento do oxigénio dissolvido num vinho à temperatura de 14º C (Salmon et. al, 2000).

O consumo de oxigénio pelas borras de leveduras de *Saccharomyces cerevisiae* está relacionado com uma moderada oxidação dos lípidos da membrana das leveduras por radicais livres. Tratam-se de lípidos hidroperóxidos, que se encontram sobretudo no plasma da membrana (Salmon, 2006). Desta oxidação resulta uma forte diminuição da concentração de ergosterol nas borras. É pouco provável que o ergosterol seja o único lípido oxidado nas borras de leveduras, já que a diminuição na quantidade de ergosterol nas borras não corresponde à quantidade total de oxigénio consumido por essas mesmas borras durante a maturação do vinho (Fornairon-Bonnefond & Salmon, 2003).

Tanto as borras como as próprias células das leveduras têm muito maiores taxas potenciais de consumo de oxigénio bem como maior afinidade do que os polifenóis do vinho (Salmon, 2006). Assim sendo, as borras assumem um papel importantíssimo na prevenção da oxidação dos compostos fenólicos.

Vivas & Saint Cricq de Gaulejac (2000) constataram que a oxidação potencial de vinhos tintos maturados com borras foi mais baixa do que a registada no vinho modelo e os

compostos libertados para o vinho durante a autólise abrandaram consideravelmente a oxidação de vários compostos fenólicos.

Um vinho saturado em ar consome o oxigénio num espaço de uma a várias semanas. As cinéticas de consumo são mais rápidas nos vinhos tintos do que nos brancos. Ao contrário do que sucede na dissolução, a taxa de consumo de oxigénio no vinho aumenta com o aumento da temperatura (Vidal & Moutounet, 2008).

Os vinhos que são mantidos em cubas de aço inox, sem volume vazio na parte superior ou então cheias com gás inerte, não contactam com oxigénio até que sejam trasfegados (Boulton et al, 1996).

Moutounet & Mazauric (2001) afirmam que a dissolução do oxigénio é inferior ao seu consumo independentemente do depósito onde vinho estagia.

Vidal & Moutounet (2008), com base na análise de outros trabalhos, comentam os vários processos enológicos e os ganhos em oxigénio nesses mesmos processos. Nas trasfegas, a dissolução de oxigénio no vinho ocorre sobretudo no início e no final da operação e é agravada se não for usado algum gás inerte. Segundo os autores, os ganhos totais em oxigénio dependerão do volume trasfegado, sendo agravados por aparelhos e instalações sobredimensionadas e por volumes pequenos. São referidos valores entre 0,30 a 1,30 mg/l.

A bombagem, em condições industriais, dissolve pouco oxigénio, entre 0,1 a 0,2mg/l.

Na centrifugação, verificaram que a dissolução de oxigénio era regular no final de cada ciclo e que varia entre 0,95 e 1,20 mg/l.

As filtrações, nas diferentes modalidades existentes, são responsáveis pelo enriquecimento de 0,1 a 2,2 mg/l.

A estabilização tartárica (sobretudo as técnicas tradicionais utilizadoras de frio) origina ganhos muito significativos, entre 0,6 a 5,7 mg/l.

O engarrafamento constitui o segundo ponto crítico. No caso dos bag-in-box, os valores rondam os 0,50 mg/l. Para as garrafas, a dissolução de oxigénio no vinho é superior e varia entre 1,00 e 7,00 mg/l.

1.5 Factores que influenciam o consumo de oxigénio no vinho

1) Temperatura

Ao contrário dos fenómenos de dissolução, a velocidade de consumo do oxigénio aumenta com o aumento da temperatura (Vidal & Moutounet, 2008).

2) pH

Singleton (1987) afirma que a pH 4 existem nove vezes mais iões fenolato no vinho do que a pH 3 e, dada a maior facilidade em oxidar um fenol nesta forma, a taxa de auto-oxidação será nove vezes mais elevada. Moutonet & Mazauric (2001) também corroboram, afirmando que a elevação do pH aumenta fortemente a cinética de consumo do oxigénio no vinho.

3) Luz

A exposição do vinho à luz, especialmente a luz solar, aumenta a taxa de consumo de oxigénio no vinho. O oxigénio singleto, um dos precursores do processo oxidativo, é produzido não pela luz directamente, mas pela luz na presença de pigmentos fotossensíveis e por certas reacções químicas ou enzimáticas (Singleton, 1987). Em condições reais, o vinho está quase sempre protegido da luz, pelo que iniciação do processo oxidativo por esta via é pouco provável.

4) Material de armazenamento

As barricas de carvalho permitem manter um teor de oxigénio dissolvido muito fraco (a média é cerca de 0,3 mg de oxigénio por litro de vinho). Os depósitos de betão, inox e plástico não permitem praticamente a entrada de oxigénio, pelo que o potencial de oxirredução registado é relativamente baixo em comparação com o observado nas barricas (Vivas *et al.*, 1993). Assim, concluímos que o consumo de oxigénio é maior em barricas de carvalho do que no outros tipos de depósito. Num estudo (Nevares & Álamo, 2008), observou-se que o maior consumo de oxigénio foi registado no vinho que estava armazenado em barricas, comparativamente aos que estavam em cubas de inox com aparas de madeira ou em tonéis de carvalho de grande volume.

5) Ferro e cobre

Os iões metálicos presentes no vinho, nomeadamente o ferro e o cobre, foram descritos em diversos estudos como catalisadores de reacções de oxidação (Danilewicz, 2003, Ribéreau-Gayon, 1933, Vivas *et al.*, 1993, Waterhouse & Laurie, 2006). A influência da presença destes iões na velocidade de consumo de oxigénio

é sempre mais significativa nos vinhos tintos que nos brancos, devido à maior percentagem em substâncias oxidáveis, como os compostos fenólicos, que os vinhos tintos apresentam (Vivas *et al.*, 1993).

6) Anidrido Sulfuroso e ácido ascórbico

Vivas *et al.* (1993) concluíram que o anidrido sulfuroso (com uma concentração de 62 mg/l) praticamente não afecta a velocidade de consumo de oxigénio dissolvido no vinho tinto. Qualquer que seja o teor de oxigénio dissolvido no vinho, o anidrido sulfuroso não influencia o potencial de oxirredução.

Por outro lado, em vinho branco, os mesmos autores verificaram que na presença de anidrido sulfuroso a velocidade de consumo de oxigénio aumenta e o potencial de oxirredução diminui.

O ácido ascórbico apresenta propriedades antioxidantes nos vinhos brancos e tintos, mas após quatro saturações em oxigénio, o seu efeito diminui, o que corresponde à sua total oxidação (Vivas *et al.*, 1993).

7) Outros constituintes do vinho

Os constituintes aqui tratados neste sub-capítulo foram enunciados por Vivas *et al.* (1993).

O etanol aumenta a velocidade instantânea de consumo de oxigénio, embora diminua o potencial de oxirredução máximo.

Os ácidos tartárico e málico têm reduzido efeito nos mecanismos oxidativos do vinho. O ácido láctico, pelo contrário, aumenta a velocidade instantânea de consumo de oxigénio bem como provoca uma elevação do estado oxidativo do meio.

O glicerol não tem qualquer efeito sobre o consumo do oxigénio.

Os compostos fenólicos são susceptíveis de consumir grandes quantidades de oxigénio, sendo considerados por alguns autores como o maior substrato do oxigénio no vinho. Duma forma geral, estes compostos opõem-se à variação do potencial de oxirredução.

As manoproteínas afectam pouco os fenómenos de oxidativos.

As enzimas provenientes da uva, tais como as polifenoloxidasas e a lacase de *Botrytis cinérea*, aumentam a taxa de combinação do oxigénio.

1.6 Métodos de medição de oxigénio dissolvido

1.6.1 Método Polarográfico

Qualquer tipo de medição que envolva a electrorredução (ou electrooxidação) de substâncias em solução num eléctrodo constitui uma medição polarográfica. O método baseia-se na aplicação de uma determinada voltagem entre 2 eléctrodos que origina uma corrente de baixa intensidade. Esta corrente é directamente proporcional à concentração do composto em solução.

Para o caso particular da medição de oxigénio em solução, esta pode ser feita através de vários tipos de eléctrodos, mas verificou-se que o eléctrodo de Clark era o mais eficiente (Ribéreau-Gayon et al. 2006b).

O sistema consiste num eléctrodo de platina (cátodo) e num eléctrodo de referência de prata (ânodo) imersos numa solução de cloreto de potássio (electrólito). Uma fina membrana isolante de teflon ou polietileno permeável ao oxigénio isola electricamente a solução a analisar e impede a deposição de substâncias susceptíveis de alterar a resposta dos elementos activos do sistema. Quando se polariza negativamente o eléctrodo de platina em relação ao eléctrodo de referência, o oxigénio (O_2) dissolvido em solução sofre uma redução electrolítica ao nível do cátodo, gerando-se uma corrente eléctrica de baixa intensidade. Na gama de voltagens entre -0,4 e -0,7 V, a corrente eléctrica varia linearmente com a concentração de O_2 .

O O_2 é reduzido pelos electrões gerados no cátodo (polarizado negativamente). A velocidade de redução de O_2 , ou seja, a corrente eléctrica gerada, é proporcional à quantidade de O_2 que se difunde através da membrana. Por sua vez, a quantidade de O_2 que se difunde através da membrana depende da concentração de O_2 dissolvido na solução onde o eléctrodo está imerso.

Este método obriga à calibração do eléctrodo, calibração essa feita com gases cuja composição é conhecida.

Alterações de temperatura afectam o eléctrodo e, portanto, a calibração e as medições devem ser realizadas à mesma temperatura ou com compensação de temperatura (Rankine & Pocock, 1970).

Nevares & Álamo (2008) afirmam que, infelizmente, este método não só é sensível à presença de outros compostos químicos, mas também destrói o mesmo composto que analisa, uma vez que consome oxigénio durante o seu funcionamento. Ainda assim, estes mesmos autores concluem que, apesar das suas desvantagens, é o método mais eficiente e confiável.

1.6.2 Método LDO

Para a descrição deste método, baseámo-nos nas informações de Michael Häck, fornecidas pela Hach Lange (www.hach-lange.pt).

Em 2003 foi desenvolvido e lançado pela empresa Hach Lange um sensor de oxigénio inovador, o LDO (*Luminescent Dissolved Oxygen*). Ao contrário do que existia, este sensor baseia-se na luminescência de um polímero, onde a concentração de oxigénio é conseguida através de uma medição de tempo. Dado que as medições de tempo não sofrem derivação, não há necessidade de calibração do sensor.

A luminescência é a propriedade que alguns materiais têm de emitir luz quando submetidos a algum estímulo que não o calor. No método LDO, o estímulo é a luz. Com a correcta combinação de um polímero fotoluminescente e um comprimento de onda de excitação, a intensidade da luminescência e o tempo que esta dura irão depender da concentração de oxigénio na amostra.

O sensor utilizado é composto por duas partes: a cápsula do sensor e o corpo da sonda. A cápsula é revestida de polímero fotoluminescente sobre material transparente. O corpo compõe-se de quatro partes: um LED (*Light Emitting Diode* – díodo emissor de luz) azul que emite a luz que desencadeia a luminescência, um LED vermelho, que serve como elemento de referência, um fotodíodo, que é um fotodetector e uma unidade electrónica de avaliação.

Quando em medição, o LED azul, também dito LED de excitação, emite uma luz azul pulsada. Esta luz, contendo alta energia, possibilita a realização de medições de alta precisão. O feixe de luz pulsada (50 ms) atinge o polímero fotoluminescente, transferindo parte da sua energia radiante. Tal transferência provoca a excitação de alguns electrões do dito polímero, levando a que abandonem o nível de energia

fundamental para um nível mais alto. Após poucos microssegundos, os electrões voltam ao nível de energia fundamental, passando por uma série de níveis cada vez mais baixos. Esta modificação leva à emissão de energia, sob a forma de luz encarnada.

As moléculas de oxigénio, quando em contacto com o polímero fotoluminescente, interagem de duas formas. O oxigénio absorve a energia dos electrões excitados, fazendo com que voltem ao nível energético fundamental, sem que exista emissão de luz. Desta forma, quanto maior for a concentração de oxigénio no meio, menor será a intensidade da luz encarnada emitida. A outra interacção refere-se ao facto de as moléculas de oxigénio ao chocarem com o polímero fotoluminescente, levarem a que os electrões excitados deixem os níveis mais excitados mais rapidamente. Esta segunda interacção leva a que o tempo de vida da luz vermelha emitida seja menor.

Os métodos electroquímicos utilizados para a medição de oxigénio dissolvido, quando comparados com o método LDO, apresentam algumas desvantagens. A primeira é a necessidade de uma manutenção constante. Outra desvantagem é a menor precisão nos resultados obtidos. Assim, podemos enunciar as seguintes vantagens deste método:

- isento de calibração;
- isento de mudanças de membrana ou electrólito;
- elevada precisão nas medições;
- sem necessidade de manter a amostra em movimento;
- insensível à contaminação;
- isenção de envenenamento do sensor por H_2S ;
- tempos de resposta rápidos;
- óptima sensibilidade a baixas concentrações de oxigénio;
- elevada resistência mecânica do sensor;
- longa vida útil do sensor.

Nevares *et al.* (2010) afirmam que a adequabilidade da tecnologia da luminescência para medir o oxigénio dissolvido é suficientemente garantida para ser utilizada em estudos de processos de microoxigenação. Os mesmos autores afirmam também que esta tecnologia não-invasiva está a tornar-se uma ferramenta essencial na gestão do oxigénio dissolvido nos processos de envelhecimento em depósito.

1.7 Prevenção da oxidação

Ribéreau-Gayon et al. (2006a) identificam as seguintes técnicas que podem ser usadas para limitar a oxidação do mosto:

- adição de dióxido de enxofre;
- adição de ácido ascórbico;
- arrefecimento das uvas e do mosto;
- aquecimento do mosto a 60° C;
- uso de gases inertes;
- clarificação do mosto.

Analise a sua acção quer no mosto, quer no vinho (caso exista).

O dióxido de enxofre (SO_2) é o principal antioxidante utilizado durante o processo de vinificação, sendo aplicado desde esmagamento até ao engarrafamento. A adição de 50 mg de dióxido de enxofre por litro de mosto destrói a tirosinase e, se as uvas são sãs, bloqueia os mecanismos enzimáticos oxidativos. No vinho, protege do acastanhamento através da acção antioxidante e evita o desenvolvimento de leveduras e bactérias prejudiciais ao vinho. As concentrações de SO_2 podem variar entre os 50 até aos 200 mg/L. Ao pH do vinho grande parte do dióxido de enxofre existe na forma de ião bissulfito HSO_3^- (94-99%), os restantes existem sob a forma de SO_2 livre. A capacidade antioxidante deve-se à reacção do SO_2 com o peróxido de hidrogénio, não directamente com o oxigénio impedindo assim a formação de aldeídos. A sua acção no vinho consiste também na reversão do processo de oxidação de quinonas reduzindo-as à sua forma fenólica (Oliveira et al. 2010).

O ácido ascórbico é outro antioxidante utilizado na vinificação, no entanto está naturalmente presente nas uvas em pequenas quantidades. Após o esmagamento das uvas este é rapidamente consumido pelo oxigénio e pela redução de orto-quinonas formadas pela oxidação enzimática (anteriormente descrita neste trabalho) aos respectivos fenóis. O ácido ascórbico apresenta uma enorme capacidade para retirar o oxigénio molecular do mosto ou do vinho. A reacção entre o ácido ascórbico e o oxigénio é 1700 vezes mais rápida que o SO_2 e o O_2 . Reage com o SO_2 num rácio de 1:1,17 (moles) ao contrário do rácio 1:1 tradicionalmente aceite (du Toit, 2007). Principalmente no vinho branco, a presença deste ácido deve-se a adições feitas antes do engarrafamento (Oliveira et al. 2010).

O arrefecimento das uvas e mosto é muito eficiente na diminuição da oxidação no mosto, pois diminui o consumo de oxigénio no mosto, embora as baixas temperaturas facilitem a dissolução de oxigénio no meio. Assim, esta técnica tem que ser utilizada em conjunto com outros processos preventivos de oxidação (gases inertes). Os processos oxidativos também são muito diminuídos pelo abaixamento da temperatura, que no caso da crio-extracção atinge temperaturas inferiores a 0°C.

O aquecimento do mosto tem como finalidade destruir as oxidases. Para ser eficiente tem que ocorrer numa fase muito inicial e tem que ser rápido. É uma técnica pouco utilizada.

Pela utilização de gases inertes pretende-se restringir ao máximo o contacto do mosto ou do vinho com a atmosfera e, conseqüentemente, com o oxigénio. Desta forma, evita-se a oxidação pelo oxigénio e o crescimento de leveduras e bactérias na superfície do vinho. Os gases utilizados são o azoto, o dióxido de carbono, o árgon ou uma combinação destes gases. Estes gases são introduzidos na canalização e depósitos de armazenamento e, dado o seu maior peso molecular, ficam mais próximos da superfície do líquido, afastando assim o oxigénio do contacto directo com o mosto ou o vinho.

A clarificação do mosto restringe a actividade oxidásica, mas não evita o acastanhamento do mosto, caso este esteja completamente desprotegido. Pela clarificação eliminam-se os produtos da oxidação, em particular os flavonóides condensados (Ribéreau-Gayon et al., 2006a).

A glutathione, conhecida a sua afinidade com as orto-quinonas, tem sido estudada como um interessante antioxidante. A glutathione liga-se às orto-quinonas, formando o GRP (ácido 2-S-glutathionilcátrico), evitando o acastanhamento dos mostos. A glutathione tem demonstrado características antioxidantes muito semelhantes ao dióxido de enxofre, o que a torna como um possível substituto do SO₂. Sonni et al. (2011) afirmam que a combinação glutathione e ácido ascórbico (rácio 1:1) oferece uma grande protecção antioxidativa, superior à oferecida isoladamente por esses dois compostos.

1.8 Objectivo

Este trabalho teve como objectivo a identificação dos processos responsáveis pela maior dissolução de oxigénio durante a vinificação de vinhos brancos e tintos. Para tal

procedeu-se à monitorização dos níveis de oxigénio ao longo de todo o processo de produção dos dois tipos de vinho.

Conhecendo quais os pontos críticos no que toca à dissolução de oxigénio do vinho, poder-se-ão tomar medidas preventivas para atenuar essa dissolução ou proceder a uma melhor protecção do vinho quando sujeito a operações que causem enriquecimento de oxigénio dissolvido.

É também de realçar que são pouquíssimos os trabalhos que trataram da medição de oxigénio utilizando o método LDO. Importa destacar que dadas as centenas de medições efectuadas ao longo de todas as operações de vinificação e conservação de vinhos brancos e tintos, estamos perante um trabalho único.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Adega

O estudo foi realizado na Adega Cooperativa de Redondo, situada no concelho de Redondo, distrito de Évora, pertencendo, assim, à região vitivinícola Alentejo.

Esta adega foi fundada em 1956 por um grupo de 14 viticultores. Desde então o seu crescimento tem sido contínuo, tendo actualmente cerca de duzentos sócios, que representam uma área total de vinha de 2700 hectares, o que a torna uma das maiores adegas da região Alentejo. A Adega Cooperativa de Redondo, que emprega actualmente 50 funcionários, tem uma capacidade de transformação de matéria-prima que excede os 15 milhões de quilos de uva. A quantidade média de uva recebida nos últimos seis anos é de 14500 toneladas, sendo 80% de uvas tintas e 20% de brancas. O rendimento situa-se ligeiramente acima dos 75%, donde que a sua produção total varia entre 14 a 15 milhões de garrafas/ano. O volume de produção que é exportado situa-se nos 20%. Desde o ano 2002, o Engenheiro Pedro Hipólito assumiu as funções de enólogo.

Nos anos 80 do século passado, assistiu-se a um crescimento sem paralelo na História dos vinhos alentejanos. A Adega Cooperativa de Redondo iniciou, nessa época, um processo de reestruturação e modernização nos sectores de recepção de uva, sua transformação e armazenamento, bem como enologia, que lhe permitiu preparar-se cabalmente para o futuro.

Actualmente, a Adega Cooperativa de Redondo comercializa as seguintes marcas: Real Lavrador, Terra d'Ossa, Porta da Ravessa, Anta da Serra, Mono e Bivarietais AcR, Reserva AcR, Garrafeira AcR, Licoroso AcR e Espumante AcR.

2.2. Aparelho de medição de oxigénio

O aparelho utilizado foi o modelo HQ30d da marca Hach Lange ligado a uma sonda através de um cabo com 5 metros de comprimento. O método é o LDO (Luminescent Dissolved Oxygen), baseado na excitação das moléculas de oxigénio através da emissão de feixes de luz azul. Não existe necessidade de calibração e a gama de medição do aparelho situa-se entre 0,1 a 20 mg/l de oxigénio. Funciona num intervalo de temperatura de 0 a 50° C. A sua precisão é de $\pm 0,1$ mg/l de O₂ para concentrações

de oxigénio inferiores a 1 mg/l e $\pm 0,2$ mg/l para concentrações de oxigénio superiores a 1 mg/l.

As medições foram efectuadas submergindo a sonda na profundidade desejada, obtendo-se o valor por leitura directa no visor do equipamento.



Fig. 6 – Sonda LDO, modelo HQ30d da marca Hach Lange.

2.3. Equipamentos Enológicos

Para o estudo das diferentes operações enológicas, utilizaram-se os seguintes equipamentos:

- Bombas de trasfega, peristálticas e de pistons .
- Filtro de Rotativo de Vácuo.
- Filtro Tangencial.
- Estabilizador Contínuo.
- Máquina de enchimento de Bag-in-Box.
- Linha de Engarrafamento.

2.4 Delineamento Experimental

As medições de oxigénio foram feitas ao longo de toda a vinificação e conservação de vinhos brancos e tintos, tentando assim acompanhar o produto desde a sua fase “mosto” até à fase final, ou seja, até estar engarrafado ou embalado. Para que esse acompanhamento fosse o mais realista possível, identificaram-se todos os processos a que os vinhos estão sujeitos nesta empresa e procedeu-se à medição dos teores de oxigénio durante essas operações.

As figuras 7 e 8 representam um esquema geral e simplificado das várias etapas da vinificação e conservação de vinhos brancos e tintos, respectivamente. Para uma melhor leitura deste trabalho, procurou-se que cada etapa do esquema correspondesse a um subcapítulo dos Resultados.

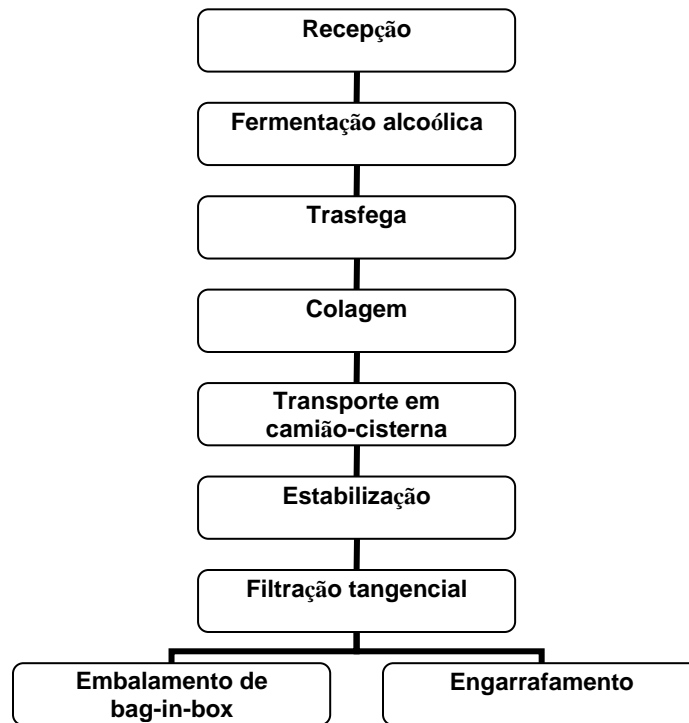


Fig. 7 – Esquema do delineamento experimental da vinificação de vinhos brancos.

Na vinificação de vinhos brancos foram identificados sete processos comuns a toda a vinificação e conservação, e mais um específico dependendo se o vinho vai para garrafa ou bag-in-box (Fig. 7). Analisemos todos os processos e a forma como se procedeu às medições de oxigénio dissolvido em cada etapa.

Na Recepção identificaram-se os seguintes passos:

- Tegão de recepção: após o desengace e esmagamento da uva, recolheram-se seis amostras com a ajuda de um balde de plástico, introduziu-se a sonda e efectuou-se a medição; para cada amostra repetiu-se o processo três vezes;
- Prensa: após o vinho ter sido prensado, recolheram-se cinco amostras para um recipiente de plástico, introduziu-se a sonda e procedeu-se à medição; para cada amostra repetiu-se o processo três vezes;

- Cuba antes do filtro de vácuo: entre a prensagem e a filtração, verificou-se os níveis de oxigénio do mosto depositado numa cuba, foram efectuadas cinco medições em diferentes pontos da cuba (todos a profundidade relativamente semelhante – 5 metros), mergulhando a sonda no mosto;
- Filtro de vácuo entrada: recolheram-se seis amostras do mosto antes de entrar no filtro de vácuo, abrindo uma torneira e recolhendo o mosto num recipiente de plástico; introduziu-se a sonda e procedeu-se à medição;
- Filtro de vácuo saída: após a filtração, recolheram-se seis amostras de forma análoga ao efectuado no passo anterior e mediu-se a concentração de oxigénio dissolvido;
- Cuba após filtro de vácuo: após a filtração o vinho é trasfegado para uma cuba, nesse local efectuaram-se quatro medições a diferentes profundidades (0,1, 1,0, 2,5 e 5,0 m) através de introdução da sonda no mosto.

Na Fermentação Alcoólica acompanhou-se o mesmo mosto até à sua completa transformação em vinho. No dia 1 (antes da adição das leveduras) fizeram-se cinco medições a diferentes profundidades da cuba (0,1, 1,0, 2,5 e 5,0m), para cada profundidade repetiu-se a medição. Após a adição das leveduras e de uma remontagem efectuada com uma bomba de trasfega, fizeram-se quatro medições à mesma profundidade que as anteriores e acompanhadas de uma repetição. Nos dias 2, 3, 4, 6 e 12 fizeram-se quatro medições a diferentes profundidades (0,1, 1,0, 2,5 e 5,0m) sempre acompanhadas de duas repetições.

Nas Trásfegas, acompanhou-se a deslocação de um vinho (vinho branco 1) entre dois depósitos. Mediu-se a concentração de oxigénio no vinho na cuba inicial a diferentes cotas (0,1, 2,5 e 5,0 m), com três repetições para cada cota. Procedeu-se à trasfega com a ajuda de uma bomba e mediu-se o teor de oxigénio na cuba final às mesmas profundidades da cuba inicial e efectuando-se também três repetições para cada cota.

A Colagem ocorreu ao longo de dois dias e a amostra é vinho branco 2. Procedeu-se à medição do teor de oxigénio no vinho em repouso em três profundidades diferentes (0,1, 2,5 e 5,0 m) e repetiu-se duas vezes as medições em cada cota. Durante a adição dos produtos bem como durante as remontagens, manteve-se a sonda a 2,5 m de profundidade e fizeram-se três medições nessa cota. Os produtos aplicados foram tanino e PVPP no dia 1 e bentonite no dia 2. A remontagem com azoto foi feita pela

introdução de um difusor de azoto no interior da cuba que permitiu a entrada do gás no vinho e a consequente agitação do líquido.

O Transporte em camião-cisterna é uma necessidade da Adega Cooperativa de Redondo pois as instalações estão separadas fisicamente. Acompanhou-se o transporte de dois vinhos brancos – vinhos brancos 3 e 4. Em ambos os casos fizeram-se medições na cuba inicial e final, bem como na cisterna – durante o enchimento, após o enchimento e após a viagem). Com a excepção do vinho 3, em que foi possível fazer medições em três profundidades diferentes (0,1, 2,5 e 5,0 m), todas as outras medições foram efectuadas a 1,0 m de profundidade. Todas as medições foram repetidas três vezes.

As medições efectuadas na Estabilização (vinhos brancos 5 e 6) seguiram o seguinte protocolo: medição directa do teor de oxigénio na cuba inicial e final em três cotas diferentes (0,1, 2,5 e 5,0 m), à excepção da cuba final do vinho branco 6, cuja amostra foi retirada na provadeira; recolha de amostras dos vinhos à entrada e saída do estabilizador (com a ajuda de um recipiente de plástico). Todas as medições foram repetidas duas vezes.

A Filtração Tangencial foi observada em dois vinhos brancos (vinhos brancos 7 e 8). No vinho branco 7, efectuou-se uma medição na cuba inicial directamente no vinho. O vinho foi trasfegado para o filtro e à saída do filtro recolheu-se uma amostra para um recipiente de plástico e mediu-se a concentração de oxigénio. Na cuba final voltou-se a verificar o teor de oxigénio através da introdução da sonda na própria cuba (0,1, 1,0 e 2,0 m), bem como pela recolha de uma amostra na provadeira da cuba. Todas as medições foram repetidas duas vezes. O vinho branco 8 esteve sujeito a uma trasfega antes da filtração e outra após a dita operação. Todas as medições foram efectuadas após recolha de amostras nas provadeiras dos diferentes locais para um recipiente de plástico. Todas as medições foram repetidas três vezes.

No Embalamento de bag-in-box, observaram-se dois vinhos brancos, vinhos brancos 9 e 10. O processo de embalamento inclui uma cuba inicial onde é corrigido o teor de sulfuroso, um filtro antecedido de uma bomba e a linha de embalamento. No caso do primeiro vinho, efectuaram-se apenas duas medições: uma na cuba antes da linha de embalamento e outra na própria embalagem. Ambas as medições foram repetidas três

vezes. Para o vinho 10, fez-se uma observação mais aprofundada. Mediu-se a concentração de oxigénio na cuba inicial a duas profundidades (0,1 e 1,5 m). Antes de entrar no filtro e após a bomba, retiraram-se duas amostras para um recipiente de plástico e foi verificado o teor de oxigénio, tendo-se feito o mesmo procedimento após a filtração. Antes de entrar na linha de enchimento, existe um depósito pulmão, desse depósito retiraram-se quatro amostras para um recipiente e mediu-se o teor de oxigénio. Após o enchimento dos bag-in-boxes, escolheram-se quatro embalagens e foi medida a concentração de oxigénio no vinho nelas contido. Todas as medições tiveram três repetições.

No Engarrafamento acompanhou-se um vinho branco (vinho branco 11). Fizeram-se três medições a diferentes profundidades (0,1, 2,5 e 5,0 m) no vinho ainda em repouso numa cuba inicial. Durante a aplicação de ácido metatartárico na cuba inicial, fez-se mais uma medição a uma profundidade de 2,5 m, durante a aplicação o vinho foi sujeito a uma remontagem com auxílio de uma bomba. Após esta operação o vinho foi trasfegado para outra cuba a uma distância de cerca de 800 metros através de canalização de inox. Nesta segunda cuba (cuba final) foram feitas três medições a diferentes cotas (0,1, 2,5 e 5,0 m) após o atesto da cuba. Durante a aplicação de sulfuroso e a remontagem com azoto, efectuou-se uma medição a 2,5 m de profundidade. Quando o vinho ficou em repouso, efectuaram-se mais três medições nas profundidades habituais (0,1, 2,5 e 5,0 m). Todas as medições foram repetidas duas vezes. Deste lote de vinho, foram escolhidas garrafas do início do engarrafamento, de uma fase intermédia e do final. O teor de oxigénio do vinho contido nessas garrafas foi medido 7, 30 e 60 dias após o engarrafamento. Esta medição foi feita com um suporte especialmente criado para este fim, em que a sonda fica fixada ao suporte e é ajustada ao bocal da garrafa, entretanto aberta. O suporte é posto na horizontal e a sonda fica em contacto directo com o vinho. Para todas as medições houve repetição.

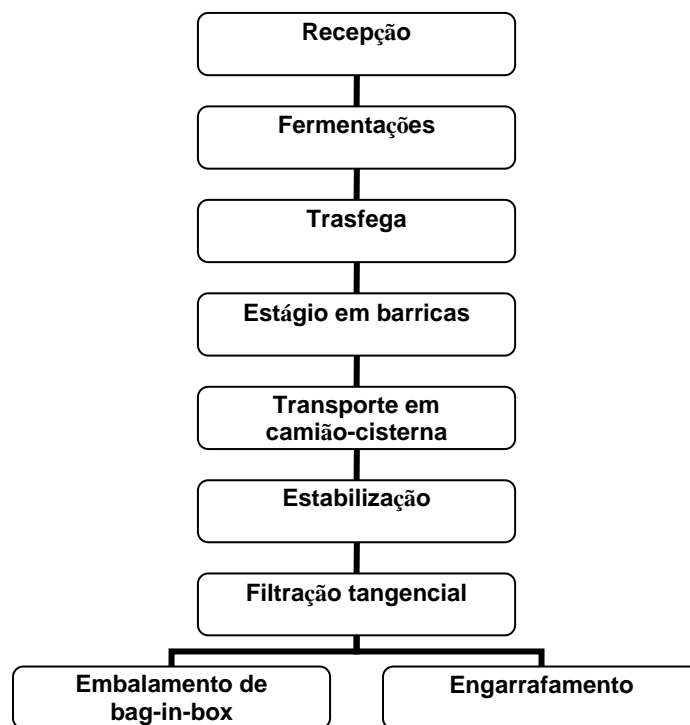


Fig. 8 – Esquema do delineamento experimental da vinificação de vinhos tintos.

A Fig. 8 esquematiza o processo de vinificação e conservação de vinhos tintos. Nem todos os vinhos foram sujeitos ao estágio em barricas. Tal como sucede nos vinhos brancos, parte do vinho é embalada em bag-in-box e outra é engarrafada.

Na recepção analisaram-se mostos de uvas provenientes de vindima mecânica e de vindima manual. A medição fez-se como nos mostos de uvas brancas, recorrendo a um recipiente de plástico para recolha da amostra. Para ambos os tipos de vindima, mediu-se o teor de oxigénio em cinco amostras diferentes. Para cada medição, fez-se uma repetição.

Acompanhou-se as duas fermentações – alcoólica e maloláctica. Na fermentação alcoólica, mediu-se a concentração de oxigénio durante o enchimento de uma cuba e depois ao longo da fermentação (antes e depois de uma remontagem) no terceiro e quarto dia após o início da fermentação – mosto tinto 1. A medição foi feita introduzindo a sonda directamente no interior do mosto em fermentação. Repetiu-se duas vezes cada medição. Foram também escolhidos dois mostos (mostos tintos 2 e 3) em fermentação para acompanhar o seu trajecto durante a remontagem. Mediu-se o teor de oxigénio no interior da cuba antes da remontagem, na canalização antes de entrar na bomba de remontagem, na canalização após a bomba e novamente no interior da cuba

após a remontagem. Para as medições feitas no interior da cuba, procedeu-se à introdução directa da sonda no seio do mosto. Para os outros dois casos, abriu-se a canalização e retirou-se a amostra para um recipiente de plástico e efectuou-se a medição da concentração de oxigénio dissolvido na amostra. Todas as medições foram repetidas duas vezes. A fermentação maloláctica foi acompanhada fazendo medições do teor de oxigénio no seio do próprio vinho (vinho tinto 1) a diferentes alturas (0,1, 1,0, 2,5 e 5,0 m) ao longo da referida fermentação. O conhecimento da fase fermentaria foi nos dado pelo laboratório da Adega Cooperativa de Redondo através de cromatografia em papel. Cada medição foi repetida duas vezes.

Nas Trásfegas foram observados dois tipos de tráfegas – a longa distância (vinho tinto 2) e por gravidade (vinho tinto 3). Nas duas observações procedeu-se à medição da concentração de oxigénio no vinho no depósito inicial e no final. Na primeira observação as medições foram feitas a 0,1, 2,5 e 5,0 metros de profundidade no depósito inicial e a 0,05, 0,1, 0,2 e 0,3 metros de profundidade no depósito final. Na tráfega por gravidade as profundidades às quais se fizeram as medições foram 0,1, 2,0 e 4,0 metros. Todas as medições foram repetidas três vezes.

Durante o Estágio em Barricas, observaram-se duas situações distintas. No Atesto de barricas mediu-se o teor de oxigénio no vinho em repouso e após o atesto de barricas de 300 (vinho tinto 5) e 700 litros (vinho tinto 4) de capacidade. As medições foram feitas pela introdução directa da sonda nas barricas a uma profundidade de cerca de 0,3 m. Foram efectuadas duas medições para cada etapa, com duas repetições. Na Aplicação de dióxido de enxofre foi medido o teor de oxigénio no vinho tinto 6 a diferentes profundidades (0,1, 0,5 e 1,0 m) antes e depois da aplicação de sulfuroso. Para cada profundidade, repetiu-se duas vezes.

Foram acompanhados dois vinhos (vinhos tintos 7 e 8) no Transporte em camiãocisterna. Nos dois vinhos mediu-se o teor de oxigénio na cuba inicial à profundidade de 0,1, 2,5 e 5,0 m, no camiãocisterna durante o enchimento a 1,0 m. de profundidade, no camiãocisterna com o vinho em repouso nas profundidades de 0,1, 1,0 e 2,0 m. e no camiãocisterna após a viagem a 0,1, 1,0 e 2,0 m. de profundidade. No segundo vinho também se mediu a sua concentração de oxigénio na cuba final logo no início do enchimento através da porta do depósito (pois o vinho ainda estava só a 0,3 m de altura) e no final do enchimento (medido no topo da cuba), após 24 horas. Todas as medições foram repetidas duas vezes.

Durante a Estabilização observaram-se dois vinhos tintos – vinhos tintos 9 e 10. Em ambos os vinhos foram retiradas para um recipiente de plástico duas amostras de vinho antes de entrar no estabilizador e outras duas à saída do estabilizador. No vinho tinto 9, foi medido o teor de oxigénio dissolvido na cuba inicial (introduzindo a sonda no interior do depósito à profundidade de 0,1 e 2,0 metros) e na cuba final (retirando duas amostras pela provadeira). É de referir que este vinho esteve sujeito a uma filtração no percurso entre o estabilizador e a cuba final. No vinho tinto 10, a medição do teor de oxigénio na cuba inicial e final foi feita em duas amostras retiradas pela provadeira das respectivas cubas. As medições nos vinhos tintos 9 e 10 foram repetidas três vezes.

Os vinhos tintos 11 e 12 foram acompanhados durante a sua Filtração Tangencial. As medições da concentração de oxigénio foram efectuadas na cuba inicial, à saída do filtro e na cuba final. No caso do vinho tinto 11, foi medido o teor de oxigénio na cuba inicial e final a três profundidades (0,1, 2,5 e 5,0 m.) e foram retiradas três amostras na saída do filtro; todas as medições foram repetidas duas vezes. Na cuba inicial do vinho tinto 12 foi retirada uma amostra pela provadeira para medição do teor de oxigénio, à saída do filtro foram retiradas duas amostras, bem como na cuba final; as medições foram repetidas três vezes.

Durante o Embalamento em bag-in-box observaram-se três vinhos (vinhos tintos 13, 14 e 15). Nos três vinhos, as medições ocorreram na cuba inicial, antes e depois do filtro e no destino final, a embalagem. Nos vinhos 14 e 15 também foi medido o teor de oxigénio no vinho antes de entrar na enchedora. No vinho tinto 13 fizeram-se medições a diferentes profundidades (0,1, 1,0 e 2,5 m.) na cuba inicial, retirou-se uma amostra antes da entrada no filtro e outra na saída, foi verificado o teor de oxigénio dissolvido numa embalagem; todas as medições foram repetidas duas vezes. As medições nos vinhos tintos 14 e 15 foram idênticas, à excepção das efectuadas na cuba inicial: no vinho tinto 14 foram feitas medições no interior da cuba inicial a três profundidades – 0,1, 1,0 e 2,5 metros – enquanto no vinho tinto 15, essas medições foram feitas a 0,1 e 0,5 metros (dado o pouco volume de vinho existente na cuba). Retiraram-se duas amostras antes e depois do filtro e mais duas antes do vinho entrar na enchedora. Mediu-se a concentração de oxigénio em duas embalagens diferentes. Todas as medições foram repetidas três vezes.

No Engarrafamento seguiu-se o vinho tinto 16. Mediu-se o teor de oxigénio dissolvido na cuba inicial a uma profundidade de 0,5 m.. O vinho foi então trasfegado para outra unidade, percorrendo uma distância de cerca de 800 metros. Na cuba de destino,

quando completamente cheia, efectuaram-se três medições a 0,1, 2,5 e 5,0 metros de profundidade. Durante a aplicação de dióxido de enxofre e a remontagem com azoto, a concentração de oxigénio foi medida directamente na cuba a uma profundidade de 2,5 m.. Quando a remontagem terminou e também após quatro horas, o teor de oxigénio foi medido a diferentes profundidades (0,1, 2,5 e 5,0 m.). Todas as medições foram repetidas duas vezes. Foram escolhidas garrafas enchidas na fase inicial, mediana e final do engarrafamento. Mediu-se o teor de oxigénio dissolvido no vinho dessas garrafas após 5, 12, 30 e 60 dias após o engarrafamento, recorrendo ao suporte descrito nos vinhos brancos. Todas as medições foram repetidas.

2.5 Teor de dióxido de enxofre livre e total

As determinações deste composto foram obtidas pelo Método de Ripper. A determinação da fracção livre baseia-se na titulação iodométrica directa em meio ácido, com titulação correctiva sobre a mesma amostra mas em que a fracção livre do SO₂ se combinou com um excesso de etanal ou propanal. A determinação do “SO₂ combinado” baseia-se na titulação iodométrica em meio ácido, após dupla hidrólise alcalina na amostra cujo “SO₂ livre” foi oxidado. (Curvelo-Garcia, 1988).

2.6 Análise estatística

Para uma melhor e mais fácil interpretação dos dados, procedeu-se ao cálculo da média dos resultados obtidos em cada etapa, bem como o desvio padrão associado. As fórmulas utilizadas foram as seguintes:

Média dos valores $\bar{X} = 1/n (x_1 + \dots + x_n)$

Desvio padrão $\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n-1}}$

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Os valores de incorporação de oxigénio que irão ser apresentados neste capítulo são, sobretudo, um balanço da concentração de oxigénio no meio. Parte do oxigénio dissolvido no vinho ou no mosto foi consumido durante os processos observados, pelo que é natural concluir que a dissolução de oxigénio tenha sido maior do que a registada.

3.1 Vinho Branco

Tendo em conta que dada a enorme altura da maioria das cubas, muitas medições tiveram que ser feitas num copo, retirando o vinho pela provadeira, tentou-se calcular a quantidade de oxigénio incorporado nesta operação. Para tal, mediu-se a concentração de oxigénio dissolvido num vinho contido numa cuba à profundidade correspondente à localização da provadeira. Depois retirou-se uma amostra desse mesmo vinho e procedeu-se à medição da concentração de oxigénio dissolvido na amostra. Pela diferença dos resultados, estabeleceu-se um valor médio de incorporação de oxigénio, que para os vinhos brancos é de 0,36 mg/l.

3.1.1 Recepção até ao início da fermentação alcoólica

Acompanhou-se um lote de uvas brancas desde a recepção até à deposição na cuba de fermentação.

Quadro I – Oxigénio dissolvido desde a recepção de uvas brancas até ao início da fermentação alcoólica.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Tegão de recepção	0,26 ± 0,07
Prensa – Saída	0,15 ± 0,05
Cuba anterior ao Filtro de vácuo	0,14 ± 0,17
Filtro vácuo - entrada	0,53 ± 0,35
Filtro vácuo - saída	7,12 ± 0,30
Cuba após Filtro Vácuo	8,33 ± 0,34

O Quadro I evidencia que nestes processos iniciais a que o mosto esteve sujeito, os valores de oxigénio dissolvido são muito baixos até à filtração no filtro rotativo de vácuo. Durante a filtração, a quantidade de oxigénio dissolvido atinge uns muito significativos 7,12 mg/l. Tal concentração ainda irá aumentar durante a trasfega do filtro de vácuo para a cuba de fermentação. Na chegada ao destino, o mosto apresentou um valor recorde, 8,33 mg/l, ou seja, quase atingiu a saturação em oxigénio (8,4 mg/l) (Moutonet & Mazauric, 2001).

Assim, pode-se afirmar que há uma incorporação total de oxigénio de 8,07 mg/l.

3.1.2. Fermentação alcoólica

As medições efectuadas nesta fase dizem respeito ao acompanhamento integral da fermentação alcoólica de um mosto de uvas brancas.

Quadro II – Oxigénio dissolvido durante a fermentação alcoólica em mosto proveniente de uvas brancas.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba - Dia 1 antes de adição das leveduras	4,37 ± 0,37
Cuba - Dia 1 após adição e remontagem	3,12 ± 0,48
Cuba - Dia 2	0,21 ± 0,08
Cuba - Dia 3	0,09 ± 0,08
Cuba - Dia 4	0,05 ± 0,04
Cuba - Dia 6	0,12 ± 0,03
Cuba – Dia 12	0,12 ± 0,03

Durante a fermentação assiste-se a uma diminuição significativa do teor de oxigénio dissolvido na solução. É de salientar que após 17 horas, a concentração de oxigénio no mosto passou de 8,33 mg/l para 4,37 mg/l, ou seja, passou para cerca de metade.

As duas medições do dia 1 estão separadas por cerca de 1 hora, apresentando também uma assinalável diminuição na concentração de oxigénio dissolvido, aproximadamente 1,25 mg/l.

No dia 2, com o mosto já em fermentação, o valor de oxigénio dissolvido baixa drasticamente (0,21 mg/l) e a queda mantém-se até ao dia 4 (0,05 mg/l). No dia 6 regista-se uma ligeira subida da concentração de oxigénio dissolvido para um valor de 0,12 mg/l. Este valor mantém-se até ao final da fermentação (dia 12).

Nesta fase, pode-se afirmar que ocorre uma nítida diminuição do teor de oxigénio dissolvido no mosto e essa diminuição é de aproximadamente 4,25 mg/l (Quadro II).

3.1.3. Trásfegas

No processo de trásfega de um vinho branco, obtiveram-se os valores expressos no Quadro III.

Quadro III - Oxigénio dissolvido na trásfega de vinho branco 1.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba inicial	0,07 ± 0,04
Cuba final	0,56 ± 0,01

No Quadro III verifica-se que a trasfega do vinho branco 1 levou a uma incorporação de 0,49 mg/l de oxigénio. É de salientar que este vinho foi retirado pela base do depósito.

Valade et al. (2006), num estudo em vinhos espumantes da região de Champagne, referem dois valores para esta operação: 0,30 mg/l (no caso de o vinho ser retirado pela base da cuba) e 3,10 mg/l (no caso de o vinho ser retirado pelo topo da cuba).

3.1.4. Colagem

A colagem realizou-se em dois dias. Pois aplicaram-se sobre o mesmo vinho duas colas diferentes: no primeiro dia, PVPP (Quadro IV); no segundo dia, bentonite (Quadro V).

Quadro IV – Oxigénio dissolvido na colagem de vinho branco 2 no dia 1.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba – repouso	0,20 ± 0,03
Cuba - aplicação de tanino	0,29 ± 0,01
Cuba – remontagem azoto	0,16 ± 0,03
Cuba - aplicação de cola	0,30 ± 0,01
Cuba – remontagem azoto	0,24 ± 0,01
Cuba – repouso	0,25 ± 0,01

Nesta primeira fase, observa-se que o aumento de concentração de oxigénio dissolvido, no balanço geral, foi baixo (0,05 mg/l). As operações que registaram maiores aumentos de oxigénio dissolvido foram a aplicação de tanino e a aplicação de cola. Ambas as operações foram feitas com uma bomba de *pistons* e o sensor estava à exacta altura da saída da mangueira proveniente da bomba, portanto numa zona de grande turbulência e algum enriquecimento de oxigénio (proveniente da bomba e da canalização). Não deixa de ser curioso que, após remontagem do vinho com azoto, a concentração de oxigénio dissolvido diminui (0,16 mg/l e 0,24 mg/l).

O saldo total de incorporação de oxigénio dissolvido neste primeiro dia é de 0,05 mg/l.

Quadro V – Oxigénio dissolvido na colagem de vinho branco 2 no dia 2.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba 1.1.069 – repouso	0,34 ± 0,05
Cuba 1.1.069 - aplicação bentonite e remontagem com azoto	0,66 ± 0,44
Cuba 1.1.069 – repouso	0,35 ± 0,04
Cuba 1.1.069 - após 2h em repouso	0,37 ± 0,04

No segundo dia de operações, a concentração de oxigénio dissolvido apresenta-se mais elevada que no dia anterior, embora a diferença não seja muito significativa, cerca de mais 0,1 mg/l.

O maior aumento no teor de oxigénio dissolvido verifica-se aquando da aplicação da bentonite, em que a concentração quase duplica. Assim como no dia anterior, este facto pode ser explicado pela posição do sensor em zona muito turbulenta. De forma análoga, a concentração de oxigénio diminui após a remontagem com o azoto.

A diferença nos valores de concentração do oxigénio dissolvido no início e no final da operação é muito baixa, houve um aumento de 0,03 mg/l.

No que toca à totalidade das operações de colagem, o aumento de oxigénio no vinho foi de 0,17 mg/l.

Catarino et al. (2011) referem dois valores para esta operação: 0,02 e 0,23 mg/l.

3.1.5. Transporte em camião-cisterna

Na operação de transporte em camião cisterna, as medições foram feitas em dois vinhos diferentes, ambos da colheita 2011 e classificados como regional alentejano, vinhos 3 e 4.

Quadro VI – Oxigénio dissolvido no transporte de vinho branco 3 em camião cisterna.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba inicial	0,30 ± 0,06
Cisterna - durante enchimento	2,56 ± 0,30
Cisterna – repouso	2,50 ± 0,01
Cisterna - após viagem	2,60 ± 0,01
Cuba final – provadeira	2,99 ± 0,06

O maior importe de oxigénio ocorre na trasfega da “cuba inicial” para o camião cisterna, em que 2,26 mg/l de oxigénio dissolvido são incorporados no vinho 3. Na trasfega, apesar de ser feita com uma bomba peristáltica, o troço final da canalização não está submerso no vinho quando é descarregado na cisterna, o que leva a uma enorme turbulência e incorporação de oxigénio na solução.

O trajecto, inferior a 1 km., é responsável pelo aumento de 0,1 mg/l de oxigénio dissolvido, que se deverá, sobretudo, ao facto de a cisterna não estar completamente cheia, existindo espaço vazio no topo. Com o natural balanço da viagem, acontecem trocas gasosas e consequente incorporação de oxigénio no vinho.

O vinho é trasfegado do camião com uma bomba de *pistons* para a cuba de destino. Neste processo, verifica-se o aumento de 0,39 mg de oxigénio dissolvido por litro de vinho, obtendo-se uma concentração final de 2,99 mg/l.

Em termos gerais, o transporte de vinho feito nestas condições é responsável por um aumento de 2,69 mg/l de oxigénio dissolvido na solução (Quadro VI).

Quadro VII – Oxigénio dissolvido no transporte de vinho branco 4 em camião cisterna.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba inicial	0,37 ± 0,02
Cisterna – durante enchimento	2,14 ± 0,01
Cisterna – repouso	2,05 ± 0,02
Cisterna - após viagem	2,19 ± 0,04
Cuba final - provadeira	2,59 ± 0,02

Os resultados obtidos expressos no Quadro VII são muito idênticos aos obtidos no vinho 3. O maior aumento na concentração de oxigénio dissolvido verifica-se na trasfega da “cuba inicial” para a cisterna. As causas são as mesmas que foram explicadas anteriormente.

Na viagem regista-se um aumento de 0,14 mg/l de oxigénio dissolvido na solução, valor ligeiramente superior ao medido no vinho anterior.

Ao retirar-se a possível incorporação de oxigénio ocorrida na passagem da provadeira para o copo, tem-se como valor final 2,59 mg/l. Esta última trasfega representa um acréscimo de 0,4 mg/l, valor muito próximo do obtido no outro vinho.

Na globalidade do transporte, obtém-se que a concentração de oxigénio dissolvido aumentou 2,22 mg/l. A etapa em que os valores mais se distanciaram entre os dois vinhos, foi a primeira trasfega. Todas as outras operações decorreram de forma muito similar em ambos os casos.

Valade et al. (2006) obtiveram valores muito próximos para o transporte propriamente dito – 0,1 mg/l.. Aliás, todo o processo observado e os valores médios de oxigénio dissolvido em cada operação são muito semelhante aos observados neste trabalho.

3.1.6. Estabilização

Analizou-se a estabilização tartárica a frio de dois vinhos diferentes – vinho branco 5 e 6. O Quadro VIII refere-se a um vinho branco regional alentejano de 2008 e o Quadro IX trata de um regional alentejano de 2011.

Quadro VIII – Oxigénio dissolvido na estabilização tartárica de vinho branco 5.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba inicial	0,56 ± 0,02
Entrada do estabilizador – provadeira	2,62 ± 0,12
Saída do estabilizador – provadeira	2,54 ± 0,07
Cuba final	2,46 ± 0,08

No balanço geral desta operação, o aumento da concentração de oxigénio dissolvido é assinalável: 1,90 mg/l. Mas logo na primeira parte o aumento é ainda maior, cerca de 2,06 mg/l. À entrada do filtro, a temperatura baixa drasticamente de 22,2 °C para valores próximos de 0,7°C. Como é sabido, ao abaixamento da temperatura corresponde um aumento da solubilidade do oxigénio em solução. Esta diminuição brusca da temperatura não está de acordo com o expectável. No permutador, o vinho que sai da estabilização deveria aumentar a sua temperatura pela permuta de temperatura com o que entra.

Após saída do estabilizador, o vinho 5 apresenta valores muito próximos quer na concentração de oxigénio dissolvido, quer na temperatura.

Regista-se uma ligeiríssima diminuição do teor de oxigénio dissolvido na cuba de recepção, apesar do aumento da temperatura ter sido significativo. Na cuba, o vinho apresenta uma temperatura próxima a 19 °C (Quadro VIII).

Quadro IX – Oxigénio dissolvido na estabilização tartárica de vinho branco 6.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba inicial	0,11 ± 0,04
Entrada do estabilizador – provadeira	1,12 ± 0,01
Saída do estabilizador – provadeira	3,02 ± 0,04
Cuba final	2,94 ± 0,02

No vinho 6, o aumento total da concentração de oxigénio dissolvido é superior ao do vinho anterior, 2,83 mg/l, embora tenha sido mais gradual. A temperatura mantém-se praticamente constante ao longo de todo o processo, entre os 14,8°C e os 17,4°C.

O maior aumento na concentração de oxigénio dissolvido verifica-se à saída do aparelho. Além da enorme turbulência a que o vinho é sujeito no interior do estabilizador, a sua temperatura baixa enormemente, para valores próximos de 0.

O valor de concentração obtido na cuba final, apesar da trasfega envolvida, é inferior ao valor de concentração de oxigénio dissolvido no vinho à saída do estabilizador. Poder-se-à explicar tal ocorrência pelo facto da medição da concentração na cuba final ter sido feita após 7 horas da medição efectuada na saída do aparelho. Esta diferença temporal justifica-se pela impossibilidade de retirar uma amostra da cuba, dado que o vinho ainda não era suficiente para chegar à provadeira. Assim, passadas as 7 horas, é provável que o oxigénio incorporado na estabilização tenha sido, em parte, consumido (Quadro IX).

Vidal et al. (2003) obtiveram para esta operação valores de 2,3 e 2,4mg de oxigénio dissolvido por litro de vinho estabilizado. Valade et al. (2006) apontam, nesta operação, como valor médio 1,20 mg/l. Catarino et al. (2011) referem três valores diferentes para esta etapa: 0,47 mg/l, 1,79 mg/l e 0,65 mg/l.

3.1.7. Filtração Tangencial

Foram analisados dois vinhos diferentes sujeitos a esta operação – vinhos brancos 7 e 8. Ambos os vinhos estavam classificados como regional alentejano e eram da colheita de 2011.

É de referir que o vinho 8 foi sujeito a uma trasfega antes de chegar à “cuba inicial” e após o filtro foi trasfegado para uma cuba e desta é que foi enviado para a “cuba final”.

Quadro X – Oxigénio dissolvido na filtração tangencial de vinho branco 7.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba inicial	0,37 ± 0,01
À saída do filtro - provadeira	0,73 ± 0,02
Cuba final - provadeira	0,84 ± 0,02
Cuba final – no topo	0,77 ± 0,03

O Quadro X mostra que o maior ganho em oxigénio ocorreu no percurso da cuba inicial para o filtro, ou seja, foram introduzidos 0,36 mg/l de oxigénio na solução.

Na filtração em si mesma e no percurso para a cuba final, assistiu-se a um aumento de 0,11 mg de oxigénio dissolvido por litro de vinho.

Existe uma diferença não muito elevada entre os valores de oxigénio dissolvido medidos na provadeira e no topo da cuba.

Se se considerar como valor da concentração de oxigénio dissolvido final aquele que foi obtido na amostra retirada na provadeira, a quantidade total de oxigénio dissolvido incorporado na filtração tangencial é de 0,47 mg/l. Por outro lado, o valor aceite para valor final for o obtido no topo da cuba, então a quantidade total de oxigénio incorporado é de 0,40 mg/l.

Quadro XI – Oxigénio dissolvido na filtração tangencial de vinho branco 8.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba inicial – provadeira	1,52 ± 0,15
À saída do filtro - provadeira	2,54 ± 0,24
Cuba final – provadeira	2,23 ± 0,07

No vinho 8, os valores obtidos são superiores em termos numéricos, mas no balanço geral a incorporação de oxigénio dissolvido não é muito distante da obtida no vinho 7. A incorporação total é de 0,71 mg/l. Ao analisar este resultado, tem que se ter em consideração que o vinho após a filtração sofreu duas trasfegas até chegar ao seu destino final.

Deve-se também referir que se registou um elevado aumento de oxigénio entre a “cuba inicial” e a saída do filtro, 1,02 mg/l. Tendo em conta que a temperatura à saída do filtro variava entre os 16,4°C e os 17,3°C e que na cuba inicial rondava os 11°C, não se verificou que o aumento da temperatura tivesse tido um efeito notório na diminuição da solubilidade do oxigénio no vinho (Quadro XI).

3.1.8. Engarrafamento

3.1.8.1. Bag-in-box

Na modalidade de embalagem em bag-in-box, acompanharam-se dois vinhos.

No primeiro caso só se mediu na cuba e na embalagem. Tratava-se de um vinho de mesa, colheita 2010 (vinho 9).

A segunda tabela é de um vinho regional alentejano de 2011 (vinho 10). Nesse caso, fizeram-se mais medições ao longo do percurso.

Quadro XII – Oxigénio dissolvido no acondicionamento de vinho branco 9 em bag-in-box.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba inicial	1,71 ± 0,02
Embalagem	2,21 ± 0,04

Nesta medição, constata-se que o processo de enchimento incorporou ao vinho 9 um total de 0,50 mg/l de oxigénio dissolvido (Quadro XII).

Quadro XIII – Oxigénio dissolvido no acondicionamento de vinho branco 10 em bag-in-box.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba inicial	1,82 ± 0,07
À entrada do filtro - provadeira	5,84 ± 0,28
À saída do filtro - provadeira	2,54 ± 0,02
Antes da enchedora - provadeira	4,51 ± 1,18
Embalagem	2,93 ± 0,40

Verificou-se que existiam mais pontos onde era possível recolher amostras. Nestes novos locais, obtiveram-se valores muito curiosos, como se pode constatar no Quadro XIII.

Na entrada do filtro obteve-se um valor altíssimo, 5,84 mg/l. A montante deste filtro está uma bomba de pás que é accionada por um sensor. As amostras recolhidas foram-no, na maioria dos casos, recolhidas com a bomba em pleno funcionamento, causando uma enorme turbulência no copo. Essa turbulência pode ser responsável pela fortíssima subida de oxigénio dissolvido no vinho. Esta hipótese é fortalecida pelo resultado obtido na etapa seguinte, 2,54 mg/l.

Antes de entrar na enchedora o vinho fica numa cuba pulmão e a sua saída é feita por pressão de azoto, não estando sujeito a nenhum tipo de bombeamento. Nesta etapa, o valor obtido foi alto, em discordância com o que seria de esperar de tal tipo de movimentação. Também aqui, as amostras obtidas sofreram sempre grande turbulência, pelo que não é de negar a possibilidade de este valor (4,51 mg/l) ser desajustado.

Considerando apenas os valores das extremidades do processo, verifica-se que a incorporação total de oxigénio dissolvido no vinho 10 foi de 1,11 mg/l. É um valor superior ao obtido no vinho anterior, mas existe um factor importante a ter em conta, a temperatura. De facto, enquanto no primeiro vinho a temperatura rondou os 15,5°C, no segundo vinho varia entre os 11,6°C e os 13,2°C. Esta diferença poderá justificar a maior concentração de oxigénio dissolvido no segundo vinho.

Vidal et al. (2004), no caso de um vinho rosé, chegaram ao valor médio de incorporação de oxigénio dissolvido de 0,42 mg/l. Catarino et al. (2011) indicam, para esta etapa, o valor de 2,22 mg/l.

3.1.8.2. Garrafa

Neste ponto, apresentam-se as medições de oxigénio desde a cuba inicial até à entrada na linha de engarrafamento. Foram retiradas amostras de garrafas em três períodos distintos do engarrafamento: início, meio e fim. Assim sendo, agruparemos as medições em tabelas de acordo com o período a que dizem respeito. O vinho estava classificado como DOC Alentejo 2010 – vinho 11.

Quadro XIV – Oxigénio dissolvido nas operações que antecedem o engarrafamento de vinho branco 11.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba inicial	1,66 ± 0,03
Cuba inicial - aplicação ác. metatartárico e remontagem	1,51 ± 0,04
Cuba final	2,06 ± 0,01
Cuba final - aplicação SO ₂ e remontagem	2,00 ± 0,01
Cuba final – repouso	2,13 ± 0,06

Durante o engarrafamento, além do processo em si mesmo e da preparação do vinho para o seu destino final, convém referir que ocorreu uma trasfega importante. Da etapa 2 (Cuba inicial – aplicação de ác. metatartárico e remontagem) para a etapa 3 (Cuba final), o vinho é enviado através de canalização de inox de um armazém para outro, percorrendo uma distância de 800 metros.

O ligeiro decréscimo na concentração de oxigénio aquando da aplicação do ácido metatartárico pode dever-se ao facto de este se combinar com o oxigénio. Apesar de algum importe de oxigénio que naturalmente ocorre nesta operação, a concentração é mais baixa que a existente. Tal facto pode indicar que a combinação do oxigénio foi superior à sua dissolução.

Na trasfega entre armazéns registou-se um aumento de 0,55 mg/l de oxigénio dissolvido no vinho, que passou a apresentar 2,06 mg/l.

Aquando da aplicação do SO₂, o teor em oxigénio dissolvido baixou ligeiramente, o que poderá ser justificado pela combinação do oxigénio com o dióxido de enxofre. Após a remontagem, a concentração de oxigénio dissolvido atinge o seu valor mais alto (2,13 mg/l). Este valor não está em consonância com o anterior, mas é um valor esperado. A não consonância poderá estar relacionada com o facto de a remontagem ser feita com azoto. Assim, ao introduzir este gás no meio, a quantidade relativa de oxigénio dissolvido no meio passa a ser inferior à que existia, pois passa a estar presente uma nova substância além de todas as outras já existentes. Desta forma, o sensor regista

uma menor quantidade de oxigénio dissolvido. No final da remontagem, o valor revelou-se superior, como seria natural que acontecesse (Quadro XIV).

Quadro XV – Oxigénio dissolvido e dióxido de enxofre livre e total medidos 7, 30 e 60 dias após o engarrafamento, na fase inicial, de vinho branco 11.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)	SO2 Livre (mg/L)	SO2 Total (mg/L)
Garrafa - 7 dias após engarrafamento	4,10 ± 0,14	36	130
Garrafa - 30 dias após engarrafamento	1,58 ± 0,07	31	122
Garrafa - 60 dias após engarrafamento	1,17 ± 0,23	22	108

O valor obtido 7 dias após o engarrafamento foi surpreendente, significa que o engarrafamento foi responsável pela introdução de 1,97 mg/l de oxigénio dissolvido. Trata-se de um valor alto cuja origem pode estar relacionada com o facto da amostra dizer respeito ao início do engarrafamento. Nesta fase, os equipamentos não estão completamente afinados e pode existir canalização não totalmente preenchida de vinho. A concentração de oxigénio dissolvido nestas amostras mantém-se alta quando comparada com as medições de amostras de outras fases do engarrafamento, o que leva a crer que a primeira medição não esteja errada. Ao longo do período observado, o teor de oxigénio dissolvido diminui 2,93 mg/l.

A diminuição da concentração de oxigénio dissolvido foi acompanhada pela diminuição de dióxido de enxofre livre e total no vinho. O teor de SO₂ livre diminui 14 mg/l e o total 22 mg/l, 60 dias após o engarrafamento. O teor de oxigénio dissolvido diminui, dentro da garrafa, 2,93 mg/l no espaço de cerca de 60 dias (Quadro XV).

Quadro XVI – Oxigénio dissolvido e dióxido de enxofre livre e total medidos 7, 30 e 60 dias após o engarrafamento, na fase intermédia, de vinho branco 11.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)	SO2 Livre (mg/L)	SO2 Total (mg/L)
Garrafa - 7 dias após engarrafamento	2,23 ± 0,01	41	130
Garrafa - 30 dias após engarrafamento	0,94 ± 0,23	34	130
Garrafa - 60 dias após engarrafamento	0,62 ± 0,25	28	120

No Quadro XVI verifica-se que o vinho engarrafado nesta fase registou um ligeiro aumento de oxigénio dissolvido (0.10 mg/l).

Durante o restante período, a concentração de oxigénio dissolvido foi diminuindo até atingir 0,62 mg/l, o que representa um decréscimo global de 1,61 mg/l.

Também se assistiu a uma diminuição da concentração de dióxido de enxofre ao longo do referido período. O SO₂ livre baixou 13 mg/l, enquanto o SO₂ total diminui 10 mg/l.

Quadro XVII – Oxigénio dissolvido e dióxido de enxofre livre e total medidos 7, 30 e 60 dias após o engarrafamento, na fase final, de vinho branco 11.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)	SO ₂ Livre (mg/L)	SO ₂ Total (mg/L)
Garrafa - 7 dias após engarrafamento	1,72 ± 0,02	39	122
Garrafa - 30 dias após engarrafamento	1,00 ± 0,16	33	125
Garrafa - 60 dias após engarrafamento	0,41 ± 0,27	26	115

Nesta fase, verificou-se que o vinho apresentou uma concentração de oxigénio dissolvido inferior à concentração registada antes do engarrafamento.

O teor em oxigénio dissolvido continuou a diminuir durante os 60 dias, tendo essa diminuição sido 1,31 mg/l.

Como anteriormente verificado, a concentração de dióxido de enxofre diminui, sobretudo o livre (Quadro XVII). O SO₂ total baixou 7 mg/l e o livre 13 mg/l.

Vidal et al. (2004) estabeleceram 1,43 mg/l como valor médio de enriquecimento de oxigénio dissolvido num engarrafamento em linha fixa. Por sua vez, Valade et al. (2006) indicam valores de 2,0 mg/l a 7,0 mg/l para esta etapa. Catarino et al. (2011) apresentam os seguintes valores de enriquecimento em oxigénio dissolvido no engarrafamento: 0,45 mg/l, 0,77 mg/l, 1,22 mg/l, 1,04 mg/l, 1,63 mg/l e 1,68 mg/l.

3.2 Vinho Tinto

Como explicado nos vinhos brancos, procurou-se definir um valor médio de incorporação de oxigénio para quando o vinho é transferido para um copo através da provadeira. Para o caso dos vinhos tintos, obteve-se o valor de 0,34 g/l.

3.2.1. Recepção e fermentações

Investigou-se se a quantidade de oxigénio dissolvido diferia muito caso se tratasse de vindima mecânica ou manual. O Quadro XVIII ilustra essa diferença.

Quadro XVIII – Oxigénio dissolvido medido em mostos de uvas tintas provenientes de vindima mecânica e manual.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Tegão recepção - vindima mecânica	0,88 ± 0,22
Tegão recepção - vindima manual	0,34 ± 0,25

Pela comparação destes dois tipos de vindima, verifica-se que a vindima mecânica é responsável por um maior aumento de oxigénio dissolvido no meio. Importa referir algumas informações relevantes para o caso. Às uvas provenientes de apanha mecânica é lhes aplicada, aquando da própria vindima, dióxido de enxofre, o que as protege de oxidações, visto que o próprio dióxido de enxofre se combina com o oxigénio atmosférico. As uvas cuja apanha é mecânica, na maioria dos casos, vêm fracturadas na membrana, o que leva à formação de uma espécie de mosto mesmo antes de chegar à adega. Este estado sólido/líquido facilita a incorporação de oxigénio na solução. As uvas apanhadas manualmente, ao manterem a sua integridade, encontram-se mais protegidas e menos susceptíveis a oxidações.

Os seguintes quadros tratam das fermentações em vinhos tintos.

Quadro XIX – Oxigénio dissolvido durante a fermentação alcoólica em mosto tinto 1 proveniente de uvas tintas.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba – enchimento	2,69 ± 0,04
Cuba - dia 3 - antes remontagem	0,17 ± 0,03
Cuba - dia 3 - depois remontagem	0,05 ± 0,01
Cuba - dia 4 - antes remontagem	0,18 ± 0,02
Cuba - dia 4 - depois remontagem	0,03 ± 0,01

Durante a fermentação alcoólica (Quadro XIX), o valor inicial é muito alto, tendo em conta os valores obtidos no tegão de recepção (Quadro XVIII). Embora a amostra em questão não seja a mesma que foi medida na recepção, este valor (2,69 mg/L) pode ser justificado pela elevada altura a que a mangueira proveniente do tegão de recepção está, levando a uma considerável queda do mosto e, conseqüente, turbulência. Também pode ter ocorrido alguma falha na aplicação do dióxido de enxofre na recepção, ficando o mosto desprotegido.

Os valores obtidos nos restantes dias evidenciam o baixo teor de oxigénio dissolvido no mosto durante a sua fermentação. Os valores obtidos após a remontagem estão em contradição com o que seria expectável. De facto, esperava-se que a concentração de oxigénio dissolvido aumentasse após a movimentação do mosto. Poder-se-á atribuir

estes valores a um erro de medição, mas importa dizer que o mesmo tipo de valores foi obtido em duas ocasiões distintas. Outra possível justificação será o facto de a sonda ter um cabo com apenas 5 metros. Dada a enorme altura das cubas, a sonda não chega às zonas mais profundas da cuba. Assim os valores de 0,17 e 0,18 mg/l poderão não representar os valores das zonas mais inferiores (que poderão ser muito mais baixos). O mosto presente nessas maiores profundidades, depois de remontado, surge no topo da cuba, onde apresenta valores muito baixos. Também não é de excluir a hipótese de que embora tenha ocorrido incorporação de oxigénio na remontagem, esse mesmo oxigénio foi rapidamente consumido. É importante recordar que devido à enorme riqueza em compostos fenólicos do meio (mosto tinto), os consumos serão muito mais altos quando comparados com os mostos brancos.

Quadro XX – Oxigénio dissolvido durante a fermentação alcoólica em mosto tinto 2 proveniente de uvas tintas em distintas zonas da cuba e distintos períodos.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba - zona superior, antes remontagem	0,18 ± 0,06
Cuba - antes de bomba remontagem	0,16 ± 0,03
Cuba - após bomba remontagem	0,16 ± 0,04
Cuba - zona superior, depois remontagem	0,14 ± 0,01

Quadro XXI – Oxigénio dissolvido durante a fermentação alcoólica em mosto tinto 3 proveniente de uvas tintas em distintas zonas da cuba e distintos períodos.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba - zona superior, antes remontagem	0,17 ± 0,07
Cuba - antes de bomba remontagem	1,08 ± 0,13
Cuba - após bomba remontagem	0,28 ± 0,05
Cuba - zona superior, depois remontagem	0,19 ± 0,06

Nos dois quadros anteriores (Quadros XX e XXI), verifica-se que os valores de oxigénio dissolvido antes da remontagem são muito próximos aos valores do quadro XIX. Por outro lado, o valor de oxigénio dissolvido não diminui muito após a remontagem, mantendo-se cerca dos outros valores. O valor mais distante dos restantes é 1,08 mg/l. Dado que se teve que abrir a canalização e recolher o mosto num balde, é natural que tenha ocorrido alguma incorporação de oxigénio, o que subiu significativamente a sua concentração.

Silva & Lambri (2006) obtiveram valores de oxigénio dissolvido mais elevados. Foram feitas medições durante a remontagem e após a mesma. No primeiro caso os valores

variam entre 1,21 mg/l e 4,41 mg/l, ao passo que no segundo caso os valores variaram entre 0,57 mg/l e 2,24 mg/l.

Quadro XXII – Oxigénio dissolvido durante a fermentação maloláctica de vinho tinto 1.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba - início F.M.	0,11 ± 0,05
Cuba - meio F.M.	0,10 ± 0,04
Cuba - final F.M.	0,11 ± 0,04

O Quadro XXII evidencia que durante a fermentação maloláctica a concentração de oxigénio dissolvido é, praticamente, igual ao longo de todo o período (que durou cerca de 1 mês).

Deve-se referir que o teor de oxigénio dissolvido na cuba variou de acordo com a profundidade a que estava a sonda. Quanto mais fundo se fez a medição, mais baixo era o valor da concentração. O valor apresentado diz respeito a uma média das diferentes profundidades.

3.2.2 Trásfegas

Na operação de trásfega, acompanhou-se uma trásfega com uso de bomba (Quadro XXIII) e outra por gravidade (Quadro XXIV).

Quadro XXIII – Oxigénio dissolvido numa trásfega de longa distância de um vinho tinto 2.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba inox	0,12 ± 0,03
Balão cimento	4,19 ± 0,26

A trásfega a que o Quadro XXIII refere, apresentou um enriquecimento em oxigénio dissolvido muito elevado (4,07 mg/l). Este alto valor deve-se a dois factores: primeiro, a distância entre os dois depósitos era considerável (superior a 1000m); segundo e mais importante, o troço final da mangueira foi colocado no topo do depósito (a uma altura superior a 5m), o que levou a que o vinho 2 caísse dessa elevada cota e provocasse uma grande turbulência ao cair. Como estes valores se referem aos primeiros hectolitros de vinho trásfegado, a altura de queda foi a máxima e, consequentemente, a incorporação de oxigénio dissolvido também.

Quadro XXIV – Oxigénio dissolvido numa trásfega por gravidade de um vinho tinto 3.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Depósito cimento a	0,11 ± 0,03
Depósito cimento b	0,34 ± 0,02

No caso do vinho tinto 3, verifica-se uma pequena incorporação de oxigénio no vinho, cerca de 0,23 mg/l. O depósito inicial (a) estava a uma cota superior do depósito final (b), pelo que bastou uma mangueira para que o vinho fosse trasfegado (Quadro XXIV). Vidal et al. (2001) registaram diferentes valores de enriquecimento médio em oxigénio dissolvido no vinho consoante o tipo de bomba utilizado. Assim, nas bombas centrífugas, o valor médio foi de 0,18 mg/l, nas bombas peristálticas foi 0,12 mg/l enquanto nas bombas de piston obtiveram 0,20 mg/l. É de referir que estes ensaios foram efectuados em canalizações inertizadas com azoto.

Neste presente trabalho, nunca se utilizou nenhum gás inerte em trasfegas, pelo que poderá ser uma justificação para a diferença de valores obtidos quando comparados com Vidal et al. (2001). Castellari et al. (2004) obtiveram um valor médio para esta operação de 0,1 mg/l. Catarino et al. (2011) mencionam os seguintes valores para trasfegas: 0,32 mg/l, 0,44 mg/l, 0,39 mg/l, 0,54 mg/l e 0,40 mg/l.

3.2.3. Estágio em barricas

3.2.3.1 Atesto de barricas

Os vinhos analisados estavam classificados como DOC Alentejo e eram da colheita de 2008.

Quadro XXV – Oxigénio dissolvido em vinho tinto 4 armazenado em barricas de carvalho 700 l. em repouso e após o seu atesto.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Barrica - repouso	0,14 ± 0,02
Barrica - após atesto	0,22 ± 0,08

Pelas medições efectuadas, verifica-se que o atesto nesta barrica foi responsável pela incorporação de 0,08 mg/l de oxigénio dissolvido no vinho (Quadro XXV).

Quadro XXVI – Oxigénio dissolvido em vinho tinto 5 armazenado em barricas de carvalho 300 l. em repouso e após o seu atesto.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Barrica - repouso	0,10 ± 0,01
Barrica - após atesto	0,12 ± 0,04

Na barrica a que o Quadro XXVI se refere, houve um enriquecimento muito menor em oxigénio dissolvido, 0,02 mg/l. O volume da barrica, sendo muito menor que o da medição anterior, poderá ser responsável pela menor incorporação de oxigénio, já que a quantidade de vinho para atestar foi menor que no primeiro caso.

Vivas et al. (1993) referem 0,3 mg/l como valor médio de oxigénio dissolvido em vinhos estagiando em barricas.

3.2.3.2 Aplicação de dióxido de enxofre

A barrica a que o Quadro XXVII se refere, continha um vinho DOC Alentejo 2010.

Quadro XXVII – Oxigénio dissolvido em vinho tinto 6 armazenado em barricas de carvalho 300 l. em repouso e após aplicação de dióxido de enxofre.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Barrica – repouso	0,08 ± 0,01
Barrica - após adição SO ₂	0,12 ± 0,01

Nesta operação assistiu-se a um aumento de 0,04 mg/l de oxigénio dissolvido no vinho tinto 6.

3.2.4 Transporte em camiã-cisterna

Foram analisados dois vinhos tintos diferentes (7 e 8) na operação de transporte em camiã-cisterna.

Quadro XXVIII – Oxigénio dissolvido no transporte de vinho tinto 7 em camiã cisterna.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba inicial	0,08 ± 0,03
Cisterna - durante enchimento	3,56 ± 0,02
Cisterna - repouso	1,14 ± 0,14
Cisterna - após viagem	2,41 ± 0,12

O valor que mais se destaca é o obtido na cisterna durante o enchimento (3,56 mg/l), o que representa um ganho de 3,48 mg de oxigénio dissolvido por litro de vinho. É um

valor alto que pode, em parte, ser justificado pela enorme turbulência causada pela entrada de vinho na cisterna.

Quando em repouso, a concentração de oxigénio é muito mais baixa – 1,14 mg/l. Esta diferença é notória, apesar de as três repetições serem semelhantes, é possível que este valor esteja errado. Esta hipótese é apoiada pelas medições efectuados aos vinhos brancos e ao tinto seguinte. Em todas as medições o valor após o enchimento não desceu tanto como sucedeu neste caso.

Após o transporte o ganho em oxigénio dissolvido é muito superior ao obtido nas outras medições, sendo cerca de 1,27 mg/l. Este valor também apoia a hipótese de o valor obtido após o enchimento não estar correcto.

Neste transporte optou-se por não medir o oxigénio dissolvido na cuba de recepção, pois esta já estava a receber vinho há um dia, pelo que o valor obtido não corresponderia, em rigor, à realidade analisada.

Neste transporte, houve uma incorporação de oxigénio dissolvido de 2,33 mg/l (Quadro XXVIII).

Quadro XXIX – Oxigénio dissolvido no transporte de vinho tinto 8 em camião cisterna.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba inicial	0,08 ± 0,04
Cisterna - durante enchimento	4,97 ± 0,02
Cisterna – repouso	2,28 ± 0,04
Cisterna - após viagem	2,41 ± 0,06
Cuba final - porta durante enchimento	5,94 ± 0,01
Cuba final – topo	4,33 ± 0,77

No transporte ilustrado no Quadro XXIX, verificou-se também um elevadíssimo valor aquando o enchimento (4,97 mg/l), ocorrendo uma incorporação de 4,91 mg/l de oxigénio dissolvido nesta etapa. Assim como no caso anterior, este valor pode ser justificado pela enorme turbulência ocorrida nesta fase.

O valor desce consideravelmente quando o enchimento cessa, tendo-se registado uma concentração de 2,28 mg/l de oxigénio dissolvido no vinho.

O percurso entre as duas unidades da adega foi responsável por um ganho de 0,13 mg/l de oxigénio dissolvido.

Na trasfega da cisterna para a cuba de recepção assistiu-se a um aumento muito assinalável de oxigénio dissolvido no vinho – 3,53 mg/l.

Esta medição foi feita directamente na porta inferior da cuba, pelo que esteve sujeita à normal turbulência que ocorre nestes processos. A outra medição na cuba de recepção foi feita 24h após a anterior e no topo da cuba. O valor é relativamente mais baixo, mas ainda assim elevado (4,33 mg/l), o que significa um ganho de 1,92 mg/l de oxigénio dissolvido se considerarmos o valor registado no camião cisterna antes da trasfega.

Uma vez que a primeira medição efectuada na cuba de recepção é a mais próxima temporalmente da medição imediatamente anterior, considera-se 5,94 mg/l como valor final. Assim, no balanço geral desta operação, ocorreu um aumento de 5,86 mg/l de oxigénio dissolvido no vinho 8.

3.2.5. Estabilização

Dois vinhos foram sujeitos a esta operação. O primeiro tratava-se de um vinho regional alentejano 2010 (vinho tinto 9), enquanto o segundo estava classificado como DOC e era de 2011 (vinho tinto 10).

Quadro XXX – Oxigénio dissolvido na estabilização tartárica de vinho tinto 9.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba inicial	0,15 ± 0,07
Entrada estabilizador - provadeira	1,24 ± 0,35
Saída estabilizador - provadeira	3,29 ± 0,32
Cuba final – provadeira	3,55 ± 0,03

O Quadro XXX evidencia que no trajecto da cuba até ao estabilizador, verificou-se um aumento de 1,09 mg/l de oxigénio dissolvido no vinho 9.

Após o processo de estabilização, o vinho apresentou uma concentração em oxigénio dissolvido de 3,29 mg/l, o que significa que no interior do estabilizador houve uma incorporação de 2,05 mg/l.

Entre o estabilizador e a cuba final, foi colocado um filtro de cartuchos. Neste percurso, incluindo a filtração, o teor de oxigénio dissolvido no vinho aumentou 0,26 mg/l.

No balanço geral da estabilização (na qual se inclui uma filtração), pode-se afirmar que se incorporaram 3,40 mg de oxigénio dissolvido por litro de vinho.

Quadro XXXI – Oxigénio dissolvido na estabilização tartárica de vinho tinto 10.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba inicial – provadeira	0,91 ± 0,06
Entrada estabilizador – provadeira	0,60 ± 0,16
Saída estabilizador - provadeira	2,10 ± 0,07
Cuba final – provadeira	2,42 ± 0,03

Entre a cuba inicial e o estabilizador assistiu-se a uma diminuição da concentração em oxigénio dissolvido. Este facto contraria o esperado, pelo que se assume a possibilidade de erro de medição. Dada esta contrariedade, os balanços parciais envolvendo esta medição estão, à partida, incorrectos. Assim opta-se por ignorar a medição efectuada na entrada do estabilizador.

Da saída do estabilizador até à cuba final, o enriquecimento em oxigénio dissolvido foi de 0,32 mg/l.

O valor total de incorporação de oxigénio neste processo foi de 1,51 mg/l (Quadro XXXI).

É de salientar que as medições do Quadro XXX foram efectuadas a temperaturas mais baixas que as do Quadro XXXI. No primeiro caso, a temperatura variou entre 10,3 e 12,8° C, enquanto que na segunda a temperatura se situou entre 14,3 e 17,0° C. Assim, é provável que a incorporação de oxigénio dissolvido na primeira medição tenha sido maior devido, em parte, à temperatura ser mais baixa e também à existência de uma filtração no trajecto final do vinho tinto 9.

Em vinho tinto, Vidal et al. (2003) afirmam que o enriquecimento em oxigénio dissolvido durante a estabilização tartárica pelo frio em contínuo é de 2,43 mg/l. Catarino et al. (2011) apresentam dois valores para a estabilização tartárica: 0,10 mg/l e 0,09 mg/l.

3.2.6 Filtração tangencial

Ambos os vinhos sujeitos à filtração tangencial estavam classificados como regional alentejano, sendo que o primeiro era de 2008 (vinho tinto 11) e o segundo de 2011 (vinho tinto 12).

Quadro XXXII – Oxigénio dissolvido na filtração tangencial de vinho tinto 11.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba inicial	0,08 ± 0,01
Saída do filtro – provadeira	0,49 ± 0,13
Cuba final	0,22 ± 0,03

Neste caso, a trasfega em conjunto com a filtração foram responsáveis pelo aumento de 0,41 mg de oxigénio dissolvido por litro de vinho.

No trajecto para a cuba final, assistiu-se a uma diminuição no teor de oxigénio dissolvido, obtendo-se como concentração final, o valor de 0,22 mg/l. Na globalidade ocorreu um aumento de 0,14 mg/l de oxigénio dissolvido (Quadro XXXII).

Quadro XXXIII – Oxigénio dissolvido na filtração tangencial de vinho tinto 12.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba inicial	0,15 ± 0,02
Saída do filtro – provadeira	1,21 ± 0,04
Cuba final - provadeira	0,78 ± 0,06

No vinho tinto 12 (Quadro XXXIII) verificou-se um maior enriquecimento em oxigénio dissolvido – 0,63 mg/l. Para a mesma etapa, o aumento na concentração de oxigénio dissolvido foi de 1.06 mg por litro de vinho. Este aumento pode ser explicado pelo facto da temperatura do vinho na segunda filtração ser francamente inferior à primeira. Na cuba inicial essa diferença chega a ser 14°C.

Tal como no primeiro caso, assiste-se a uma diminuição da concentração na cuba final, perdendo 0,43 mg de oxigénio dissolvido por litro de vinho.

Vidal et al. (2001) apresentam como valor médio de introdução de oxigénio dissolvido no vinho durante uma filtração tangencial, 1,5 mg/l. Castellari et al. (2004) referem 0,20 mg/l como o valor médio de incorporação de oxigénio na filtração tangencial. Catarino et al. (2011) apresentam três valores para a filtração tangencial: 0,25 mg/l, 0,29 mg/l e 0,49 mg/l.

3.2.7. Engarrafamento

3.2.7.1 Bag-in-box

Analysaram-se três acondicionamentos de vinho tinto em bag-in-box

O Quadro XXXIV refere-se a um vinho classificado como Mesa, mas que se sabia ser da colheita de 2010 (vinho tinto 13). Os dois outros vinhos (vinhos tintos 14 e 15) estavam classificados como IGP Regional Alentejano e ambos eram de 2011.

Quadro XXXIV - Oxigénio dissolvido no acondicionamento de vinho tinto 13 em bag-in-box.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba inicial	0,21 ± 0,03
À entrada do filtro - provadeira	4,27 ± 0,01
À saída do filtro - provadeira	0,71 ± 0,06
Embalagem	0,82 ± 0,06

Nesta primeira amostra, tal como sucedeu nos vinhos brancos, assistiu-se a um aumento enorme do oxigénio dissolvido logo após a entrada no filtro. Uma possível explicação do sucedido foi apresentada no capítulo 3.1.8.1.

No balanço geral da operação, a incorporação total de oxigénio dissolvido no vinho 13 foi de 0,61 mg/l (Quadro XXXIV).

Quadro XXXV – Oxigénio dissolvido no acondicionamento de vinho tinto 14 em bag-in-box.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba inicial	2,94 ± 0,02
À entrada do filtro – provadeira	6,88 ± 0,14
À saída do filtro – provadeira	3,84 ± 0,07
Antes enchedora – provadeira	5,45 ± 0,75
Embalagem	3,20 ± 0,18

Na segunda amostra, verificou-se o enorme aumento de oxigénio dissolvido após a entrada do vinho no filtro.

Em termos gerais, ocorreu um enriquecimento de 0,26 mg/l em oxigénio dissolvido (Quadro XXXV).

Quadro XXXVI – Oxigénio dissolvido no acondicionamento de vinho tinto 15 em bag-in-box.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba inicial	3,83 ± 0,05
À entrada do filtro – provadeira	5,59 ± 0,21
À saída do filtro – provadeira	4,01 ± 0,05
Antes enchedora – provadeira	5,12 ± 0,03
Embalagem	4,17 ± 0,00

O perfil dos resultados das medições mantém-se idêntico também neste caso. A incorporação total de oxigénio nesta amostra foi de 0,34 mg/l (Quadro XXXVI).

Os valores de oxigénio dissolvido verificados na “Cuba Inicial” nos quadros XXXV e XXXVI são francamente elevados para o que seria desejável. A principal causa destes valores deverá estar relacionada com as trasfegas que antecederam a chegada dos vinhos 14 e 15 à “Cuba inicial”. Também poderão ter contribuído remontagens efectuadas para a dissolução de ácido metatartárico ou dióxido de enxofre.

A concentração final de oxigénio dissolvido nos vinhos acondicionados em bag-in-box mostrou ser muito dependente da concentração de oxigénio dissolvido no vinho antes do processo de acondicionamento.

Como referido nos resultados dos vinhos brancos, Vidal et al. (2004), num vinho rosé, obtiveram 0,42 mg/l como valor médio de enriquecimento em oxigénio dissolvido. À excepção da primeira amostra, os valores obtidos neste trabalho são inferiores aos obtidos pelos autores citados. De qualquer forma, os valores obtidos não são, no seu todo, muito distantes dos referidos. Catarino et al. (2011), para este processo, apresenta o valor de 2,47 mg/l. É um valor muito superior aos obtidos neste trabalho bem como ao referido por Vidal et al. (2004).

3.2.7.2. Garrafa

O vinho tinto sobre o qual as medições incidiram tratava-se de um vinho IGP Regional Alentejano da colheita de 2010 – vinho tinto 16. Tal como se fez no vinho branco, acompanhou-se todo o processo de engarrafamento, desde a cuba inicial até à entrada na linha de engarrafamento. Durante o processo, retiraram-se várias amostras representativas da fase inicial, mediana e final do engarrafamento. Os resultados estão agrupados em concordância com esses períodos.

Quadro XXXVII – Oxigénio dissolvido nas operações que antecedem o engarrafamento de vinho tinto 16.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)
Cuba inicial	0,16 ± 0,01
Cuba final - após atesto	0,33 ± 0,04
Cuba final - aplicação SO ₂ e remontagem	0,34 ± 0,02
Cuba final - após remontagem	0,31 ± 0,02
Cuba final – 4h após remontagem	0,26 ± 0,03

Durante o transporte entre os dois armazéns, sensivelmente 800m de distância, o vinho 16 ganhou cerca de 0,17 mg/l de oxigénio dissolvido. E foi nesta fase que se verificou o maior aumento na concentração de oxigénio dissolvido no que respeita às operações efectuadas antes do engarrafamento.

Durante a aplicação de dióxido de enxofre, bem como durante a remontagem, os níveis de oxigénio dissolvido mantiveram-se entre 0,31 e 0,34 mg/l, o que demonstra a relativa estabilidade da sua concentração.

Antes de entrar na linha de engarrafamento, passadas 4 horas, fez-se uma última medição. Verificou-se que a concentração de oxigénio dissolvido tinha diminuído para 0,26 mg/l.

No balanço geral, o oxigénio dissolvido aumentou 0,10 mg/l (Quadro XXXVII).

Quadro XXXVIII – Oxigénio dissolvido e dióxido de enxofre livre e total medidos 5, 12, 30 e 60 dias após o engarrafamento, na fase inicial, de vinho tinto 16.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)	SO ₂ Livre (mg/L)	SO ₂ Total (mg/L)
Garrafa - 5 dias após engarrafamento	1,17 ± 0,04	32	82
Garrafa - 12 dias após engarrafamento	0,59 ± 0,14	30	78
Garrafa - 30 dias após engarrafamento	0,29 ± 0,14	31	75
Garrafa - 60 dias após engarrafamento	0,51 ± 0,29	26	75

No Quadro XXXVIII, observa-se que o vinho engarrafado nesta fase apresentou um aumento de 0,91 mg/l de oxigénio dissolvido após o engarrafamento. Passados 7 dias, esse valor diminui para 0,59 mg/l, o que significa uma perda de 0,58 mg/l.

Na terceira medição verificou-se uma diminuição notória no teor em oxigénio dissolvido (0,30 mg/l). Mas na medição seguinte, o valor da concentração voltou a subir e aproximar-se do valor da segunda medição. Este acontecimento repetiu-se nas três amostras analisadas, isto é, a terceira medição apresentou valores muito inferiores à segunda medição, voltando a subir a concentração na quarta medição. Dado isto, é provável que tenha existido um erro por parte do operador na terceira medição.

No total do tempo observado, o vinho perdeu 0,66 mg/l de oxigénio dissolvido.

O dióxido de enxofre livre diminui 6 mg/l, ao passo que o total baixou 7 mg/l. O método de Ripper apresenta um erro de +/- 10 mg/l, o que significa que pode existir erro de método e a concentração do SO₂ não ter sofrido alteração. O mesmo se aplica às concentrações de dióxido de enxofre seguintes.

Quadro XXXIX – Oxigénio dissolvido e dióxido de enxofre livre e total medidos 5, 12, 30 e 60 dias após o engarrafamento, na fase intermédia, de vinho tinto 16.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)	SO ₂ Livre (mg/L)	SO ₂ Total (mg/L)
Garrafa - 5 dias após engarrafamento	1,32 ± 0,03	35	80
Garrafa - 12 dias após engarrafamento	0,64 ± 0,23	30	70
Garrafa - 30 dias após engarrafamento	0,24 ± 0,15	31	78
Garrafa - 60 dias após engarrafamento	0,43 ± 0,21	29	70

Neste lote, o enriquecimento em oxigénio dissolvido durante o engarrafamento foi de 1,06 mg/l, valor ligeiramente superior ao observado na fase inicial desta operação. Ao contrário do observado no vinho branco, esta fase incorporou mais oxigénio dissolvido que a primeira, embora a diferença não seja muita.

A diminuição da concentração de oxigénio dissolvido ao longo dos 60 dias foi de 0,89 mg/l.

No que diz respeito ao sulfuroso, o livre baixou 6 mg/l e o total 10 mg/l (Quadro XXXIX).

Quadro XL – Oxigénio dissolvido e dióxido de enxofre livre e total medidos 5, 12, 30 e 60 dias após o engarrafamento, na fase final, de vinho tinto 16.

Local	Oxigénio dissolvido (mg/l)	SO ₂ Livre (mg/L)	SO ₂ Total (mg/L)
Garrafa - 5 dias após engarrafamento	1,21 ± 0,02	32	75
Garrafa - 12 dias após engarrafamento	0,33 ± 0,17	30	78
Garrafa - 30 dias após engarrafamento	0,28 ± 0,22	30	80
Garrafa - 60 dias após engarrafamento	0,40 ± 0,21	30	80

No Quadro XL, verifica-se que o engarrafamento foi responsável pelo aumento de 0,95 mg/l de oxigénio dissolvido no vinho 16.

Os valores de oxigénio dissolvido na segunda e terceira medição são inferiores aos obtidos na última. Ao longo do período observado, a diminuição foi de 0,81 mg/l.

Os valores do dióxido de enxofre mantiveram-se estáveis ao longo dos 60 dias.

Vidal et al. (2004) indicam como valor médio de incorporação de oxigénio num enchimento em linha fixa 1,60 mg/l. Em comparação com os resultados aqui obtidos, os

nossos valores são, na sua totalidade, inferiores. É de referir que as medições de Vidal et al. (2004) foram feitas logo após o engarrafamento, enquanto estas tiveram lugar 5 dias após o engarrafamento. É possível que neste período de tempo, possa ter ocorrido alguma combinação de oxigénio dissolvido no vinho. Catarino et al. (2011) indicam os seguintes valores para o engarrafamento: 1,05 mg/l, 1,27 mg/l, 1,14 mg/l, 1,40 mg/l, 1,01 mg/l e 1,49 mg/l.

3.3 Balanço geral

Os quadros XLI e XLII descrevem, simplificadamente, o balanço da concentração de oxigénio observado nas operações levadas a cabo em vinhos brancos e tintos, respectivamente.

Quadro XLI – Balanço geral da incorporação de oxigénio ao longo da vinificação e conservação de vinhos brancos.

Operação	Balanço do teor de oxigénio (mg/l)
Recepção até ao início da fermentação	8,07
Fermentação	-4,25
Trasfega	0,49
Colagem	0,17
Transporte em camião-cisterna*	2,22 - 2,69
Estabilização*	1,90 - 2,83
Filtração tangencial*	0,40 - 0,71
Embalamento bag-in-box*	0,50 - 1,11
Pré-engarrafamento	0,47
Engarrafamento**	-0,41; 0,10 e 1,97

* valores de diferentes vinhos., ** valores registados no mesmo vinho,

Pela análise do quadro XLI, observamos que a maior dissolução de oxigénio ocorre na recepção da uva. Esta enorme entrada de oxigénio ocorre aquando da filtração rotativa de vácuo do mosto. O transporte em camião-cisterna e a estabilização são processos responsáveis pela dissolução de consideráveis quantidades de oxigénio no vinho. As restantes operações promovem a dissolução de oxigénio, mas em níveis menores. Durante a fermentação assiste-se a uma forte diminuição do oxigénio dissolvido, o que é fácil de compreender, dada a massiva dissolução de oxigénio que ocorre na etapa anterior.

Quadro XLII – Balanço geral da incorporação de oxigénio ao longo da vinificação e conservação de vinhos tintos.

Operação	Balanço do teor de oxigénio (mg/l)
Fermentação alcoólica	-2,63
Fermentação maloláctica	0,00
Trasfega	4,07
Trasfega por gravidade	0,23
Transporte em camião-cisterna *	2,33 – 5,86
Estabilização *	3,40 – 1,51
Filtração tangencial	0,41 – 1,06
Atesto de barricas	0,08 – 0,02
Aplicação de dióxido de enxofre em barricas	0,04
Embalamento de bag-in-box *	0,26; 0,34 e 0,61
Pré-engarrafamento	0,10
Engarrafamento**	0,91; 0,95 e 1,06

* valores de diferentes vinhos., ** valores registados no mesmo vinho,

No caso do vinho tinto, a mais alta dissolução de oxigénio foi registada durante um transporte em camião-cisterna. Também numa trasfega a longa distância ocorreu um assinalável enriquecimento de oxigénio dissolvido no vinho. A estabilização foi responsável por uma entrada considerável de oxigénio nos vinhos. Todas as outras operações registaram ganhos de oxigénio, mas na sua quase totalidade, inferiores a 1,00 mg/l. Na fermentação assistiu-se a uma diminuição do teor de oxigénio dissolvido.

Para uma mais fácil visualização dos teores de oxigénio dissolvido ao longo das operações, foram colocados nos Anexos os gráficos correspondentes a cada processo acompanhado.

4. CONCLUSÃO

Após o enorme número de medições efectuadas durante a vinificação e conservação de vinhos brancos e tintos, conseguiu-se identificar quais os pontos críticos, isto é, aqueles nos quais ocorre a maior incorporação de oxigénio dissolvido na solução em ambos os tipos de vinho.

No caso dos vinhos brancos, a maior dissolução de oxigénio ocorre ainda antes da fermentação, no filtro rotativo de vácuo. É mesmo a maior entrada de oxigénio verificada neste trabalho quer em vinhos brancos como tintos. Durante esse processo, o mosto registou 7,12 mg/l de oxigénio dissolvido e, após trasfega, ao chegar à cuba de fermentação, o mosto atingiu 8,33 mg/l de oxigénio dissolvido, o que se traduz por um ganho total de 8,07 mg/l. Tendo em conta que o valor normalmente referido para a saturação em oxigénio é de 8,4 mg/l, este valor é altíssimo.

O transporte em camião cisterna entre as duas unidades da adega é o segundo ponto crítico. Não tanto pelo transporte em si, mas considerando a globalidade das operações envolvidas neste processo. Foram registados valores totais de dissolução de oxigénio de 2,22 mg/l e 2,69 mg/l.

O terceiro ponto crítico é a estabilização tartárica a frio. Nesta etapa, foram registados ganhos de 2,83 mg e 1,90 mg de oxigénio dissolvido por litro de vinho.

Deve-se ainda referir, que outras duas operações registaram valores de dissolução de oxigénio superiores a 1,00 mg/l. São elas o acondicionamento em bag-in-box (1,11 mg/l) e numa fase do engarrafamento (1,97 mg/l).

No que se refere aos vinhos tintos, a maior dissolução de oxigénio ocorreu num dos transportes por camião cisterna, tendo-se verificado que cada litro de vinho ganhou 5,86 mg de oxigénio dissolvido. Num outro transporte, registou-se uma incorporação de 2,33 mg/l.

A trasfega a grande distância foi onde se registou o segundo maior enriquecimento em oxigénio dissolvido (4,07 mg/l). Para trasfega é um valor altíssimo.

A estabilização é o terceiro ponto crítico observado. Nesta operação, atingiu-se um ganho de oxigénio dissolvido de 3,40 mg por cada litro de vinho. Já noutra ocasião no mesmo processo, a totalidade de dissolução de oxigénio foi de 1,51 mg/l.

Com dissoluções superiores a 1,00 mg de oxigénio por litro, há a referenciar uma das fases do engarrafamento (a intermédia).

É de referir que algumas destas grandes incorporações de oxigénio poderiam ser atenuadas de forma significativa. Quer no transporte em camião cisterna, quer na trasfega a grande distância nos vinhos tintos, a quantidade total de oxigénio dissolvido poderia ser inferior. É provável que se a mangueira que está a debitar o vinho no camião cisterna fosse maior, permitiria que a mesma estivesse introduzida no vinho, evitando a enorme turbulência criada naquelas condições e evitando a queda livre a apreciável altura do vinho. O mesmo se aplica à trasfega a grandes distâncias. A impressionante altura a que o vinho é debitado com a consequente turbulência criada, poderia ser alterada.

Os valores de oxigénio dissolvido nas diferentes fases da vinificação e conservação obtidos neste trabalho são, de uma forma geral, próximos aos obtidos em estudos anteriormente efectuados.

Bibliografia

Atanasova, V., Fulcrand, H., Cheynier, V. & Moutounet, M. (2002) Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine-making. *Analytica Chimica Acta*, **458**, 15-27.

Boulton, R. B., Singleton, V. L., Bisson, I. F. & Kunkee, R. E. (1996) *Principles and practices of winemaking*. New York: Chapman and Hall.

Canos-López, M., Pardo-Minguez, F., Schmauch, G., Saucier, C., Teissedre, P.L., López-Roca, J.M. (2008). Effect of micro-oxygenation on colour and anthocyanin-related compounds of wines with different phenolic contents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**, 5932-5941.

Castellari, M., Simonato, B., Tornielli, G. B., Spinelli, P. & Ferrarini, R. (2004) Effects of different enological treatments on dissolved oxygen in wines. *Italian Journal of Food Science*, **16**, 387-396

Catarino, A., Alves, S. & Mira, H. (2011). Influência das operações tecnológicas no teor de oxigénio dissolvido nos vinhos. Fórum 4 - Alimentação, Tecnologia, Qualidade e Segurança. Escola Agrária de Santarém, Santarém, 16 de Novembro de 2011.

Curvelo-Garcia, A.S. (1988). Controlo da Qualidade dos Vinhos. Química Enológica – Métodos Analíticos. Lisboa: Instituto da Vinha e do Vinho.

Danilewicz, J. C. (2003). Review of Reaction Mechanisms of Oxygen and Proposed Intermediate Reduction Products in Wine: Central Role of Iron and Copper. *American Journal of Enology and Viticulture*, **54**, 73-85.

du Toit, W. J., Marais, J., Pretorius, I. S. & du Toit, M. (2006). Oxygen in must and wine: A review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, **27**, 76-94.

du Toit, W. J. (2007). New findings regarding ascorbic acid in wine. *Wynboer*, <http://wineland.co.za>.

Fornairon, C., Mazauric, J. P., Salmon, J. M. & Moutounet, M. (1999) Observations on the oxygen consumption during maturation of wines on lees. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, **33**, 79-86.

Fornairon-Bonnefond, C. & Salmon, J. M. (2003) Impact of oxygen consumption by yeast lees on the autolysis phenomenon during simulation of wine aging on lees. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 2584-2590

Fornairon-Bonnefond, C., Aguerra, E., Deytieux, C., Sablayrolles, J.M. & Salmon, J. M. (2003). Impact of oxygen addition during enological fermentation on yeast lees reactivity toward oxygen during wine aging. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **95**, 496-503.

Häck, M. (sem data). Medição óptica da concentração de oxigénio em água. Hach Lange, Dusseldorf. Consultado em: www.hach-lange.pt

Karbowiak, T., Gougeon, R. D., Alinc, J. B., Brachais, L., Debeaufort, F., Voilley, A., Chassagne, D. (2010). Wine oxidation and the role of cork. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **50**, 20-52.

Laurie, V. F., Law, R., Joslin, W. S. & Waterhouse, A. L. (2008). In situ Measurements of Dissolved Oxygen during Low-Level Oxygenation in Red Wines. *American Journal of Enologie and Viticulture*, **59**, 215-219.

Li, H., Guo, A., & Wang, H. (2008). Mechanisms of oxidative browning of wine. *Food Chemistry*, **108**, 1-13.

Mira do Ó, N. (2002). A utilização de gases inertes em enologia e a influência das operações tecnológicas no teor de oxigénio dos vinhos. Relatório do Trabalho de fim de curso de Engenharia Agro-Industrial, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.

Moutonet, M. & Mazauric, J.-P. (2001). L'Oxygène dissous dans le vin. *Revue Française d'Oenologie*, **186**, 12-15.

Nevares, I. & Álamo, M. (2008). Measurement of dissolved oxygen during red wines tank aging with chips and micro-oxygenation. *Analytica Chimica Acta*, **621**, 68-78.

Nevares, I., del Álamo, M. & Gonzalez-Muñoz, C. (2010). Dissolved oxygen distribution during micro-oxygenation. Determination of representative measurement points in hydroalcoholic solution and wines. *Analytica Chimica Acta*, **660**, 232-239.

Oliveira, C. M., Silva Ferreira, A. C, Freitas, V. D. & Silva, A. M. S. (2011). Oxidation mechanisms occurring in wines. *Food Research International*, **44**, 1115-1126.

Pasteur, L. (1873). Étude sur le vin: ses maladies, causes qui les provoquent, procédés nouveaux pour les conserver et pour les vieillir. Imprimerie Royale (eds) Paris.

Rankine, B. C. & Pocock, K. P. (1970). Dissolved oxygen in wine. *Australian Wine Brewing and Spirit Review*, **87**, 44-52.

Ratledge, C. & Evans. C.T. (1989). Lipids and their metabolism. In A.H. Rose & J.S. Harrison (Eds.), *The Yeasts* (2nd ed.), Vol 3 (pp. 367-455). London: Academic Press.

Riba, J.P. (1990) L'Oxygène en solution: Solubilité et Lois de Transfert. *Revue Française d'Oenologie*, **124**, 14-20.

Ribéreau-Gayon J (1933) Contribution à l'étude des oxydations et réductions dans les vins: application à l'étude du vieillissement et des casses. 2^{de} édition, Delmas Ed., Bordeaux.

Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Doneche, B. & Lonvaud A. (2006a) Handbook of enology. Vol 1. New York, Wiley & Sons.

Ribéreau-Gayon, P., Glories Y. A., Maujeau, D. & Durbourdieu, D. (2006b) Handbook of enology. Vol 2. New York, Wiley & Sons.

Ribéreau-Gayon, Dubourdieu, D. Donèche, B. & Lonvaud, A.(2006a) Condition of yeast development. In P. Ribéreau-Gayon (Ed.) Handbook of Enology, Vol 1, (pp. 79-113). Chichester: John Wiley & Sons, Ltd.

Sablayrolles, J. M. & Barre, P. (1986). Evaluation des besoins en oxygène de fermentations alcooliques en conditions oenologiques simulées. *Sciences des aliments*, **6**, 373-383.

Salmon, J. M., Fornairon, C. & Barre, P. (1998). Determination of oxygen utilization pathways in an industrial strain of *Saccharomyces cerevisiae* during enological fermentation. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, **86**, 154-163.

Salmon, J. M., Fornairon-Bonnefond, C., Mazauric, J. P. & Moutounet, M. (2000) L'enjeu oenologique de l'élevage sur lie des vins rouges. I – Les lies de levures et la consommation d'oxygène. Connaissances actuelles & Avenir de l'élevage en barriques (Special Issue). *Journal des Sciences et Techniques de la Tonnellerie*, 39-42.

Salmon, J.-M. (2006). Interactions between yeast, oxygen and polyphenols during alcoholic fermentations: Practical implications. *Food Science and Technology*, **39**, 959-965.

Silva, A. & Lambri M. (2006). Oxygen measures and consumption in must and wine. *Analytica Chimica Acta*, **563**, 391-395.

Singleton, V. L. (1982) Oxydation of wine. Proceedings of the International Symposium on Viticulture, Vinification and the Treatment and the Handling of Wine. Paper n° 18, 1-14. Oxford University, England.

Singleton, V. L. (1987). Oxygen with Phenols and Related Reactions in Musts, Wines and Model Systems: Observations and Practical Implications. *American Journal of Enology and Viticulture*, **38**, 69-77.

Sonni, F., Clark, A. C., Prenzler, P. D., Riponi, C. & Scollary, G. R. (2011). Antioxidant Action of Glutathione and the Ascorbic Acid/Glutathione Pair in a Model White Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **59**, 3940-3949.

Valero, E., Millan, C. & Ortega, J. M. (2001). Influence of oxygen addition during growth phase on the biosynthesis of lipids in *Saccharomyces cerevisiae* (M330-9) in enological fermentations. *Journal of Biosciences and Bioengineering*, **92**, 33-38.

Valade, M., Tribaut-Sohier, I., Bunner, D., Laurent, M., Moncomble, D. & Tusseau, D. (2007). Les apports d'oxygène en vinification et leurs impacts sur les vins. Le cas particulier du champagne (2^{ème} partie). *Revue Française d'Oenologie*, **222**, 17–28.

Valade, M., Tribaut-Sohier, I., Bunner, D., Pierlot, C., Moncomble, D. & Tusseau, D. (2006). Les apports d'oxygène en vinification et leurs impacts sur les vins. Le cas particulier du champagne (1^{ère} partie). *Revue Française d'Oenologie*, **221**, 1–8.

Vidal, J.-C., Dufourcq, T., Boulet, J.-C. & Moutonet, M. (2001). Les apports d'oxygène au cours des traitements des vins. Bilan des observations sur site, 1^{ère} partie. *Revue Française d'Oenologie*, **190**, 24-31

Vidal, J.-C., Boulet, J.-C. & Moutonet, M. (2003). Les apports d'oxygène au cours des traitements des vins. Bilan des observations sur site, 2^{ème} partie. *Revue Française d'Oenologie*, **201**, 32-38

Vidal, J.-C., Boulet, J.-C. & Moutonet, M. (2004). Les apports d'oxygène au cours des traitements des vins. Bilan des observations sur site, 3^{ème} partie. *Revue Française d'Oenologie*, **205**, 25-34

Vidal J.C. & Moutounet M. (2008). La maîtrise des apports d'oxygène au conditionnement. 48^{ème} Congrès National des Œnologues de France, Limoux 30 mai 2008. *Revue Française d'Œnologie*, **229**, 19-29.

Vivas, N., Zamora, F. & Glories, Y. (1993). Incidence de certains facteurs sur la consommation de l'oxygène et sur le potentiel d'oxydoréduction dans les vins. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, **27**, n° 1, 23-34.

Vivas, N., Saint Cricq de Gaulejac, N. (2000). L'enjeu oenologique de l'élevage sur lie des vins rouges. II. Propriétés et modes de valorisation. Connaissances actuelles & Avenir de l'élevage en barriques (Special Issue). *Journal des Sciences et Techniques de la Tonnellerie*, 43-46.

Waterhouse, A. L. & Laurie, V. F. (2006). Oxidation of wine phenolics: A critical evaluation and hypotheses. *American Journal of Enology and Viticulture*, **57**, 306–313.

Zamora, F. (2009) Biochemistry of Alcoholic Fermentation. In M. V. Moreno-Arribas & M. C. Polo (Eds.) *Wine Chemistry and Biochemistry*, (pp.3-26). New York: Springer Science+Business Media, LLC.

ANEXOS

ANEXO A - Gráficos com variação de oxigenio dissolvido em vinho branco

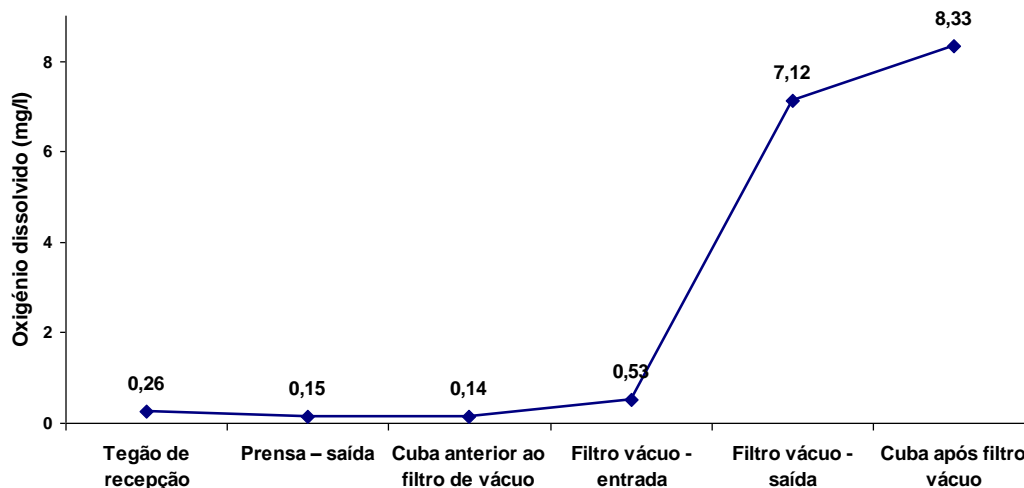


Fig. A. 1 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido desde a recepção de uvas brancas até ao início da fermentação alcoólica.

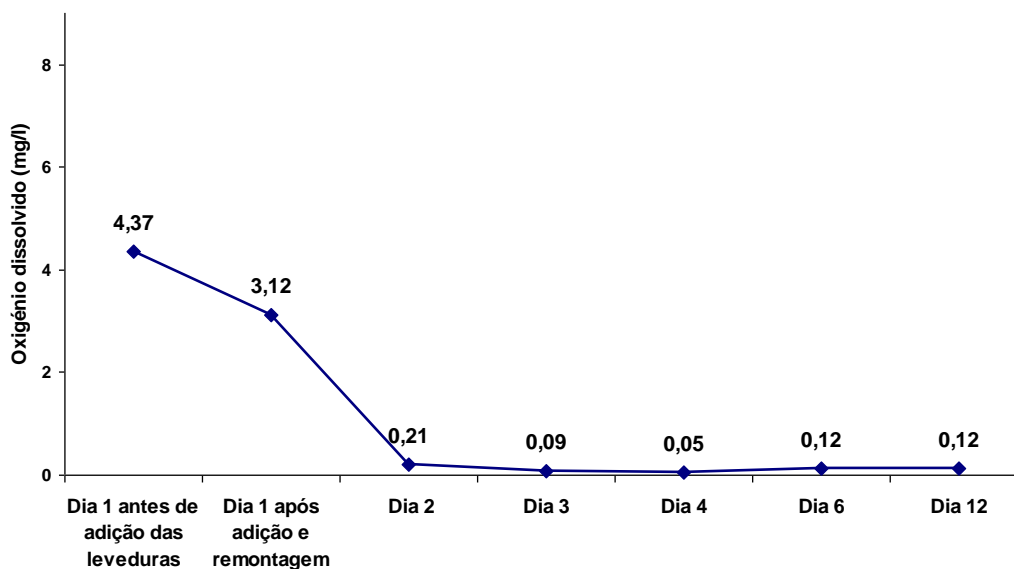


Fig. A. 2 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido durante a fermentação alcoólica em mosto proveniente de uvas brancas.

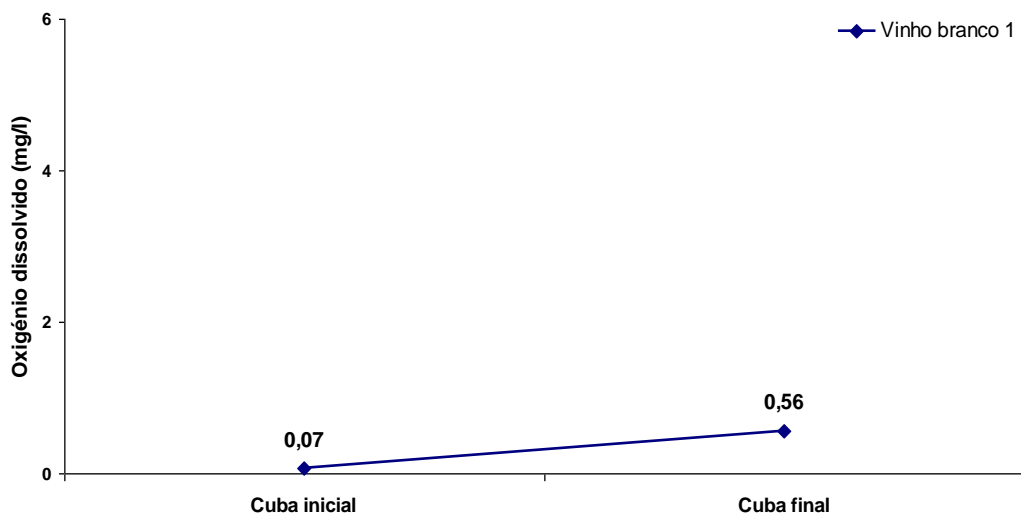


Fig. A. 3 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido na trasfega de vinho branco 1.

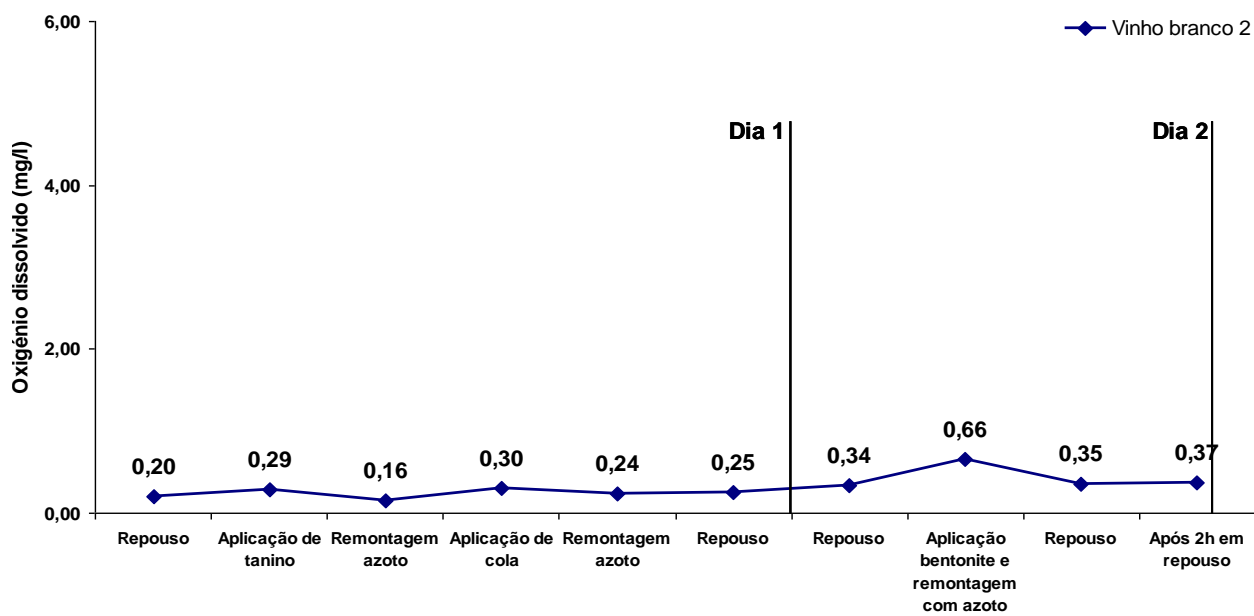


Fig. A. 4 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido na colagem de vinho branco 2 no dia 1 e 2.

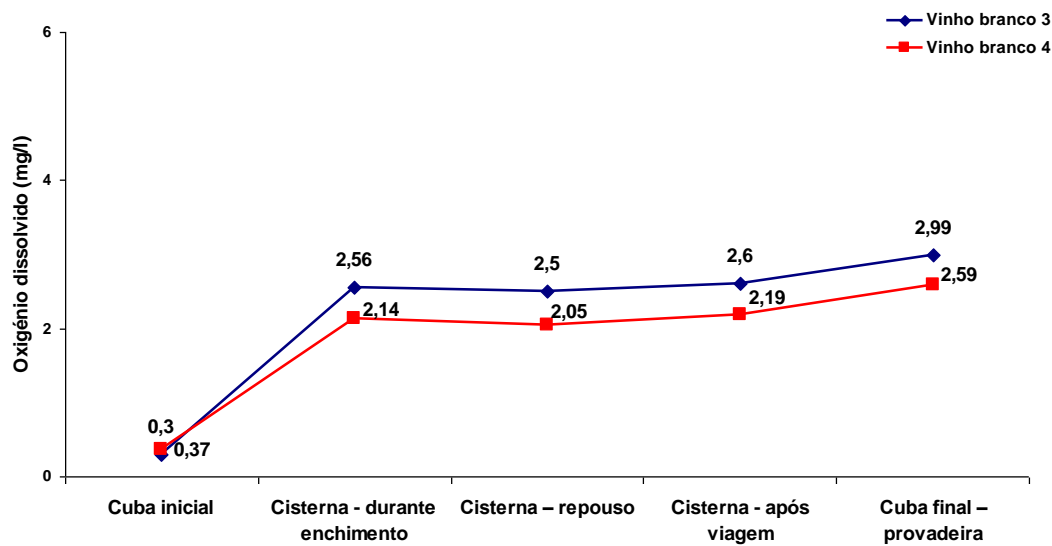


Fig. A. 5 – Gráfico com variação de oxigênio dissolvido no transporte de vinho branco 3 e 4 em caminhão cisterna.

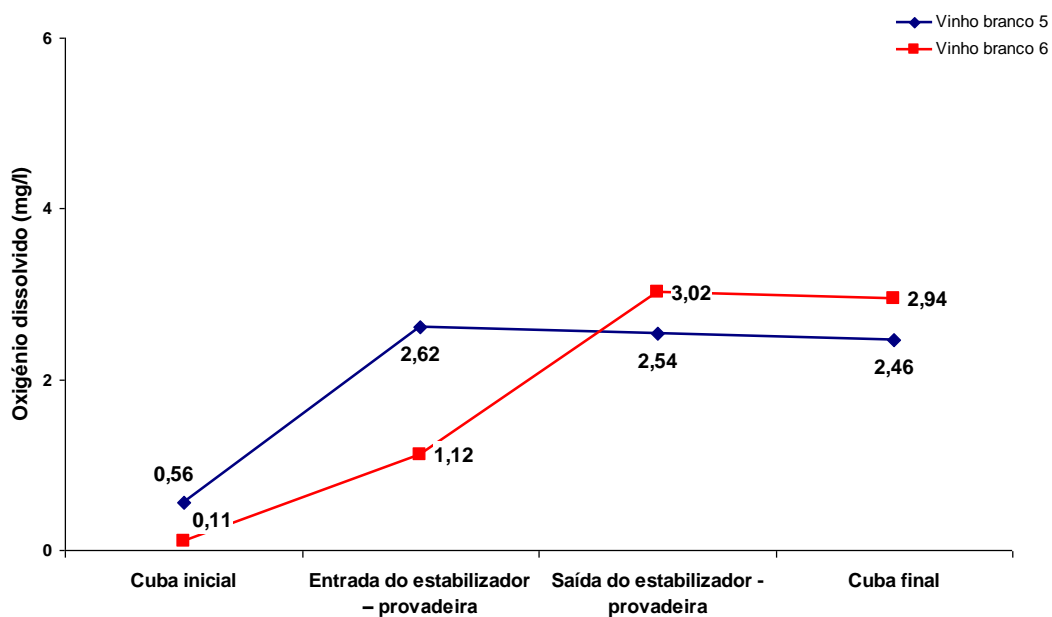


Fig. A. 6 – Gráfico com valores médios de oxigênio dissolvido na estabilização tartárica de vinho branco 5 e 6.

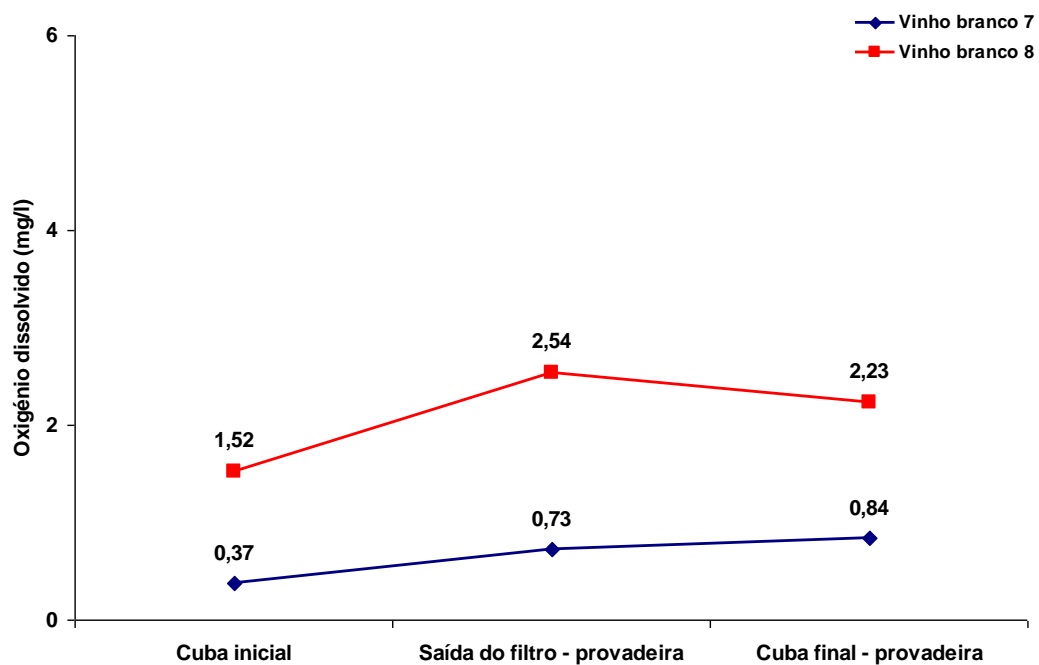


Fig. A. 7 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido na filtração tangencial de vinho branco 7 e 8.

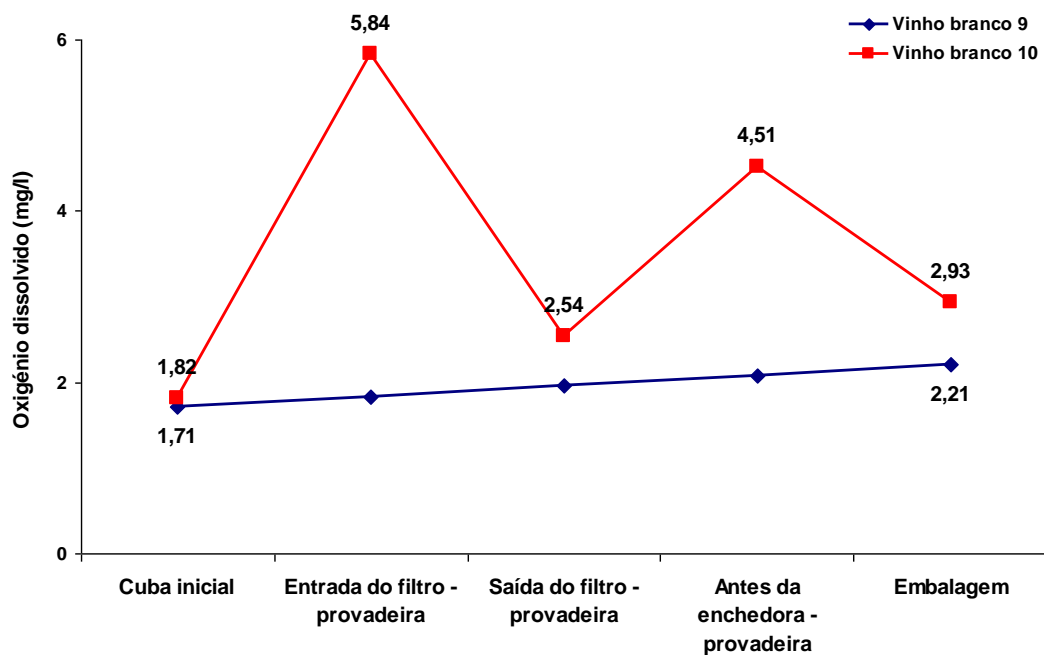


Fig. A. 8 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido no acondicionamento de vinho branco 9 e 10 em bag-in-box.

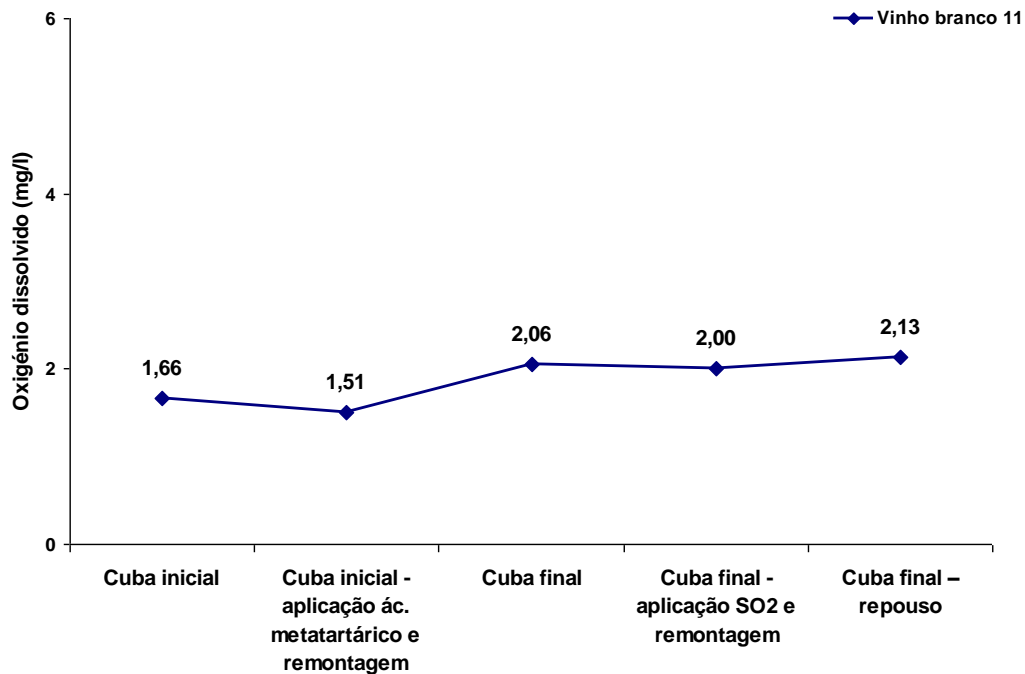
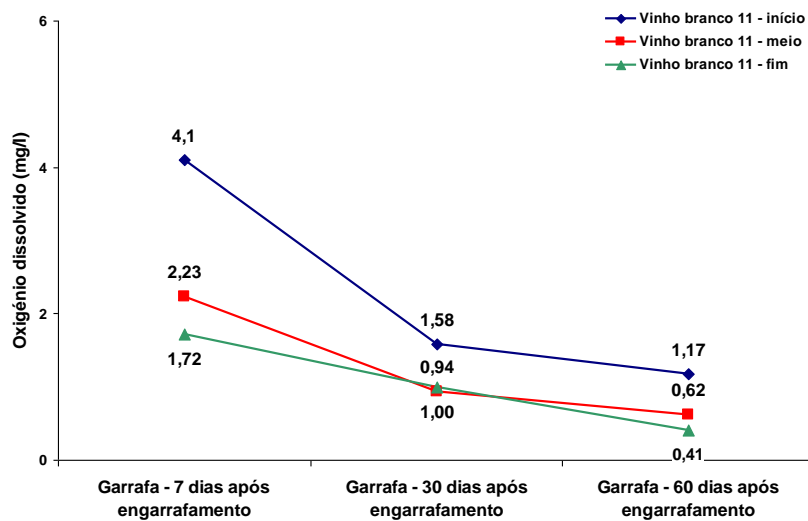


Fig. A. 9 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido nas operações que antecedem o engarrafamento de vinho branco 11.



Início	SO2 Livre (mg/L)	36	31	22
	SO2 Total (mg/L)	130	122	108
Meio	SO2 Livre (mg/L)	41	34	28
	SO2 Total (mg/L)	130	130	120
Fim	SO2 Livre (mg/L)	39	33	26
	SO2 Total (mg/L)	122	125	115

Fig. A. 10 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido e tabela com dióxido de enxofre livre e total medidos 7, 30 e 60 dias após o engarrafamento, na fase inicial, de vinho branco 11.

ANEXO A - Gráficos com variação de oxigenio dissolvido em vinho tinto

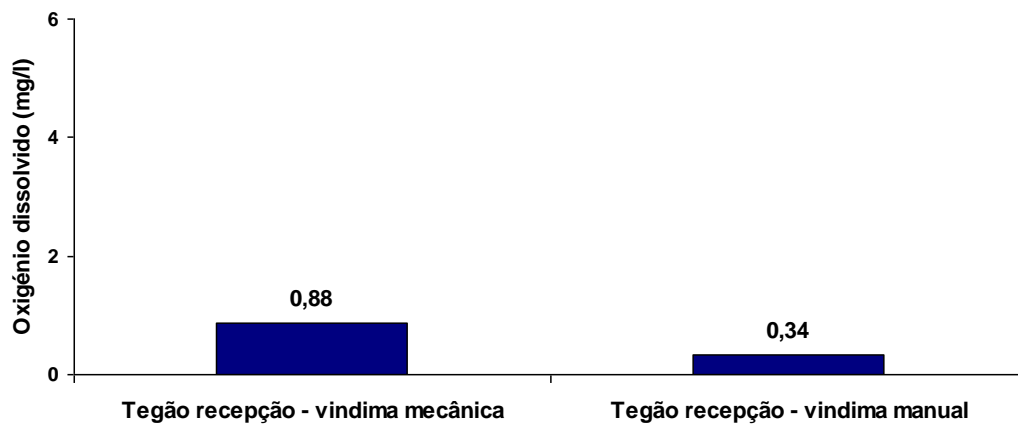


Fig. B. 1 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido medido em mostos de uvas tintas provenientes de vindima mecânica e manual.

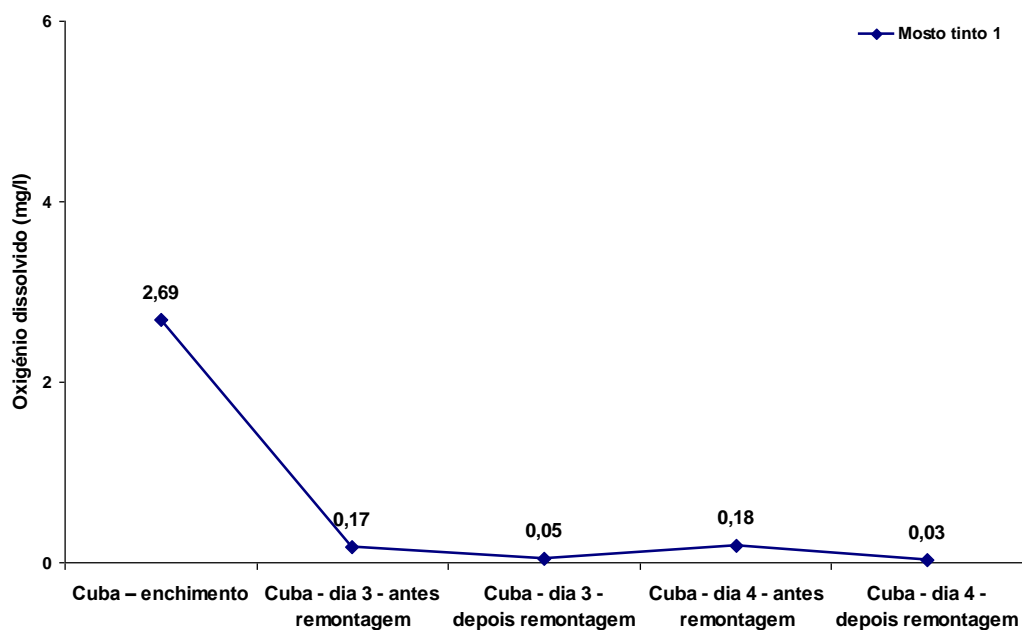


Fig. B. 2 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido durante a fermentação alcoólica em mosto tinto 1 proveniente de uvas tintas.

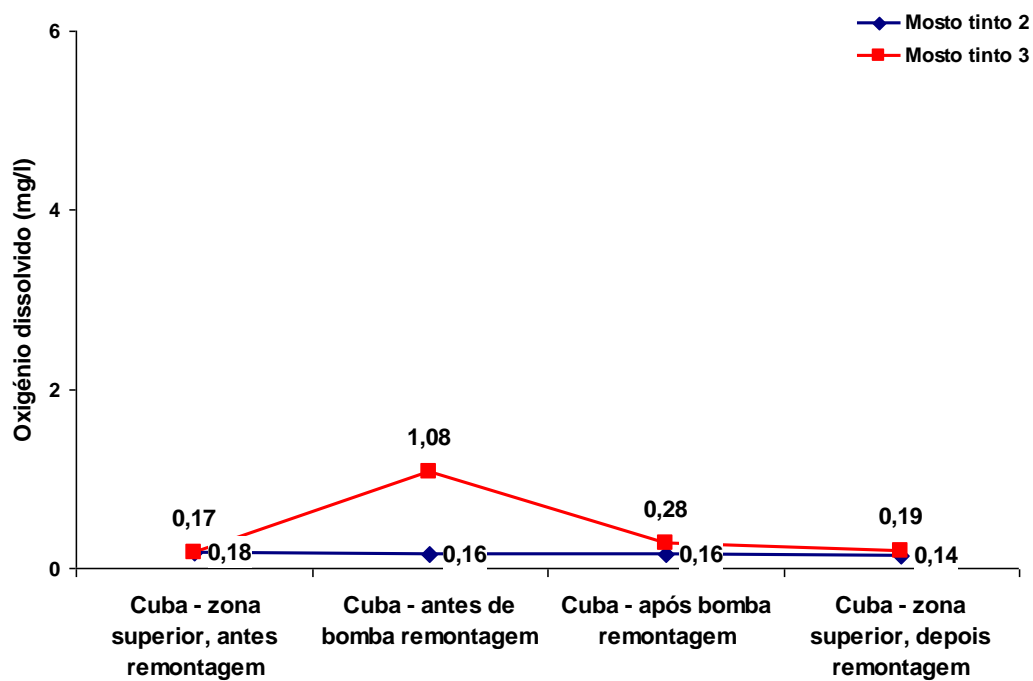


Fig. B. 3 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido durante a fermentação alcoólica em mosto tinto 2 proveniente de uvas tintas em distintas zonas da cuba e distintos períodos.

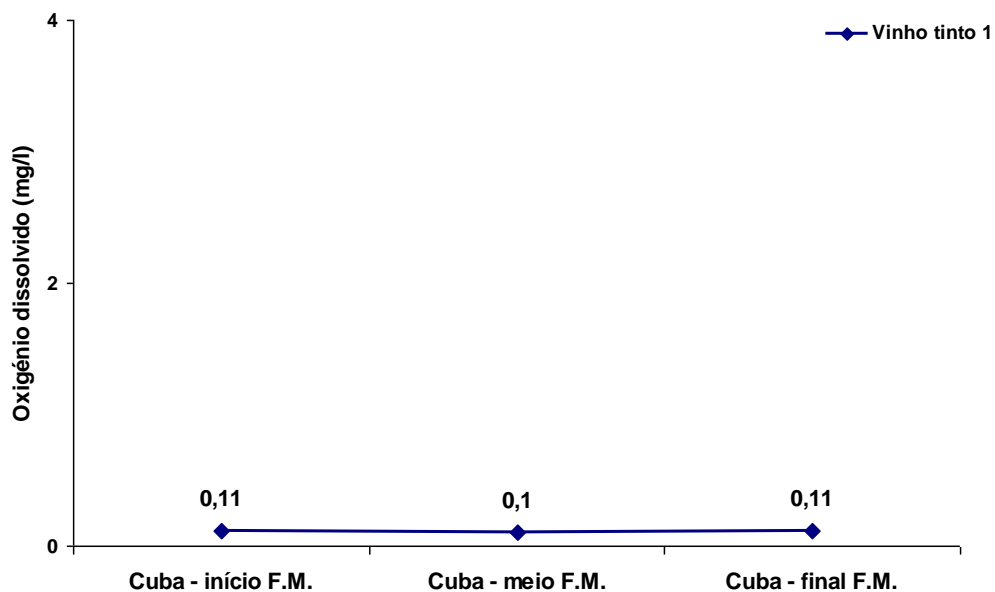


Fig. B. 4 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido durante a fermentação maloláctica de vinho tinto 1.

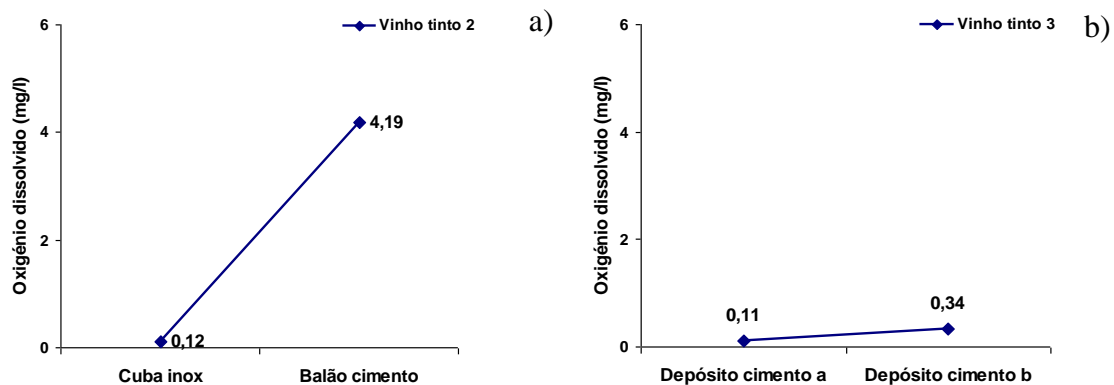


Fig. B. 5 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido numa trasfega de longa distância de um vinho tinto 2 (a) e por gravidade de um vinho tinto 3 (b).

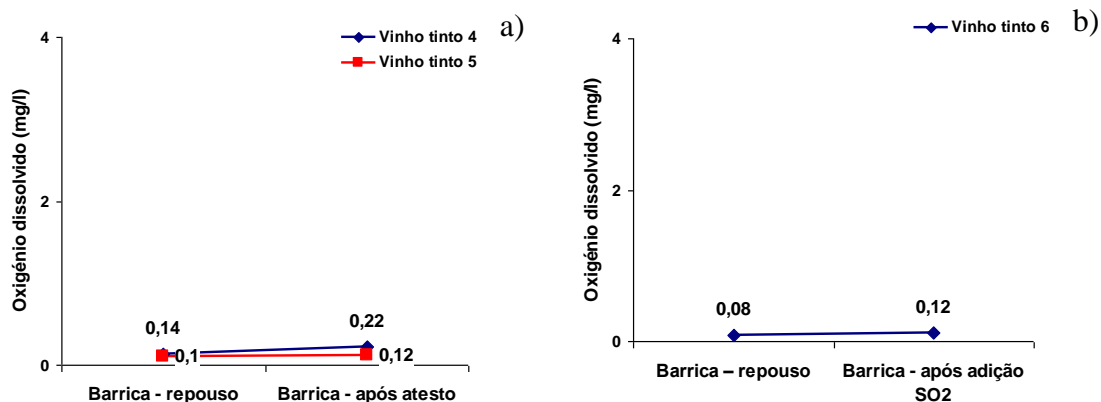


Fig. B. 6 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido em vinho tinto 4 e 5 armazenado em barricas de carvalho 700 l. em repouso e após o seu atesto (a) e em vinho tinto 6 armazenado em barricas de carvalho 300 l. em repouso em repouso e após aplicação de dióxido de enxofre (b).

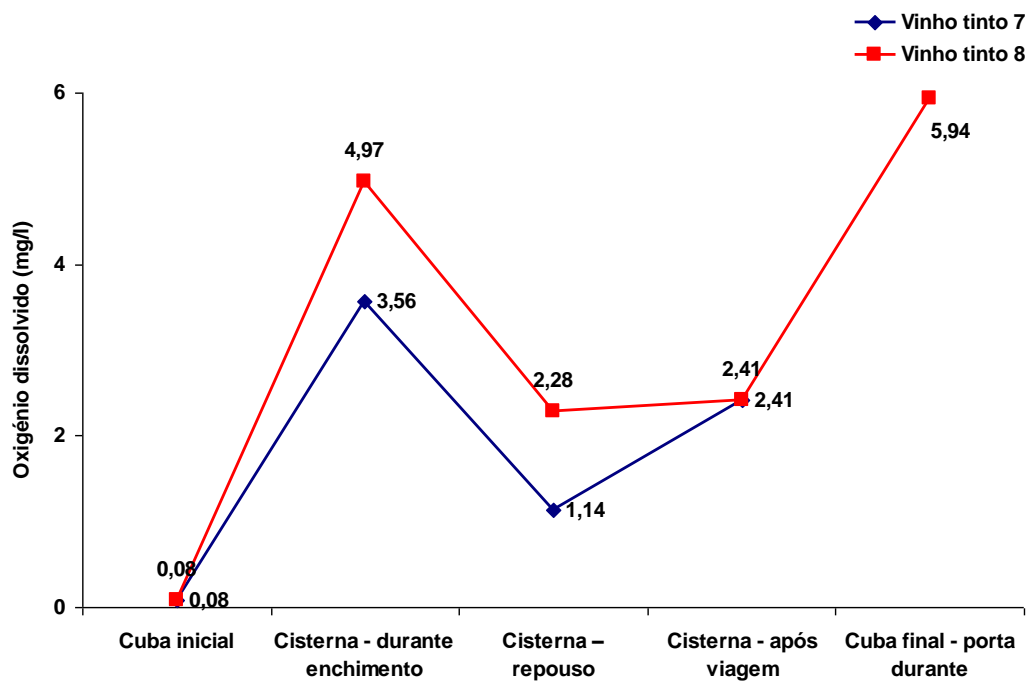


Fig. B. 7 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido no transporte de vinho tinto 7 e 8 em caminhão cisterna.

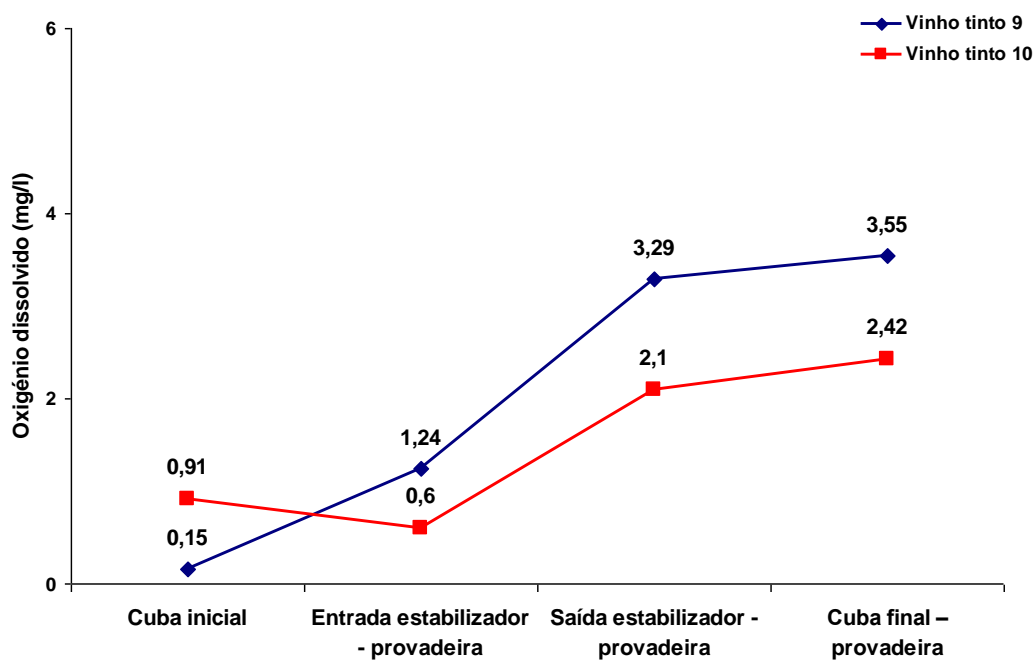


Fig. B. 8 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido na estabilização tartárica de vinho tinto 9 e 10.

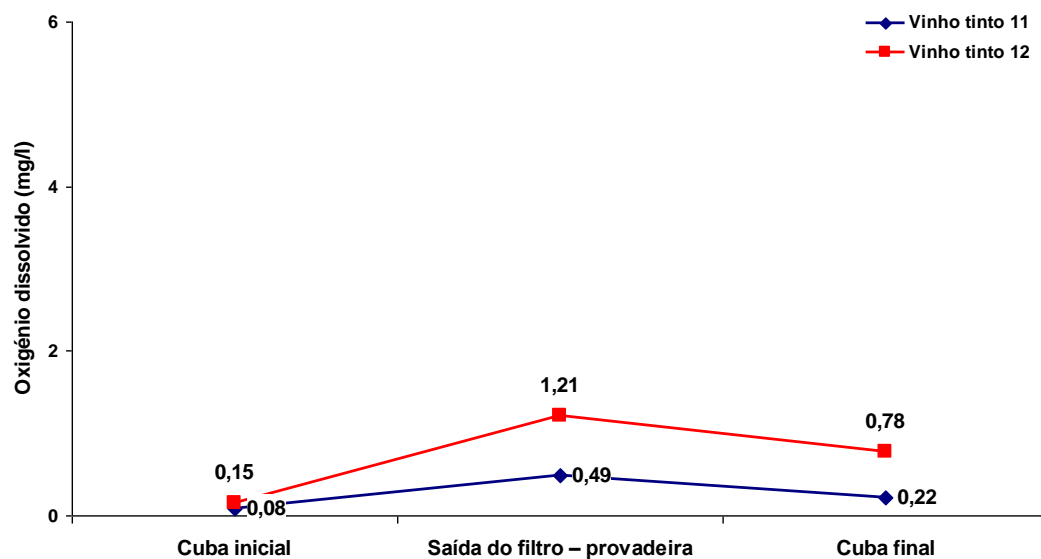


Fig. B. 9 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido na filtração tangencial de vinho tinto 11 e 12.

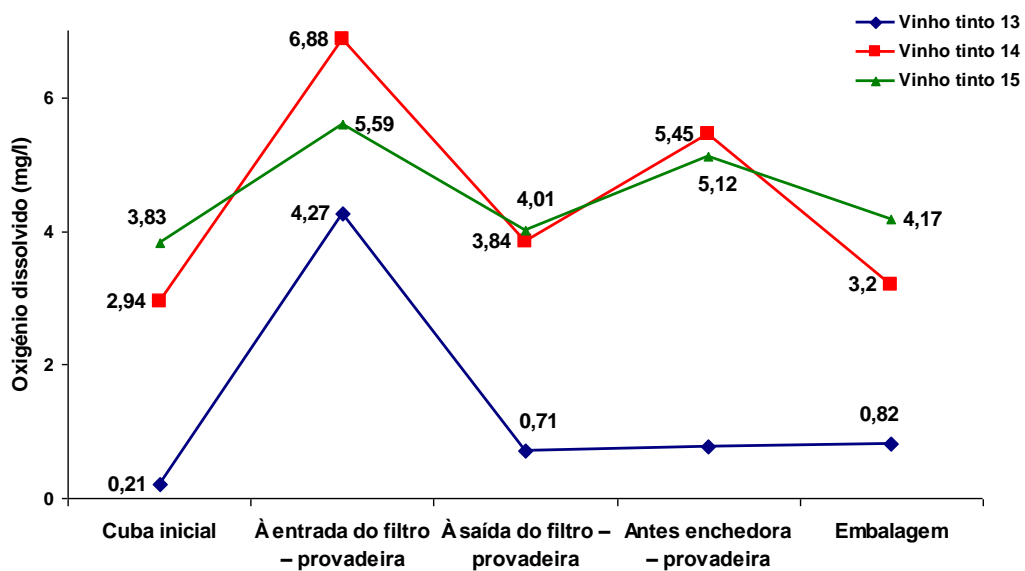


Fig. B. 10 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido no acondicionamento de vinho tinto 13, 14 e 15 em bag-in-box.

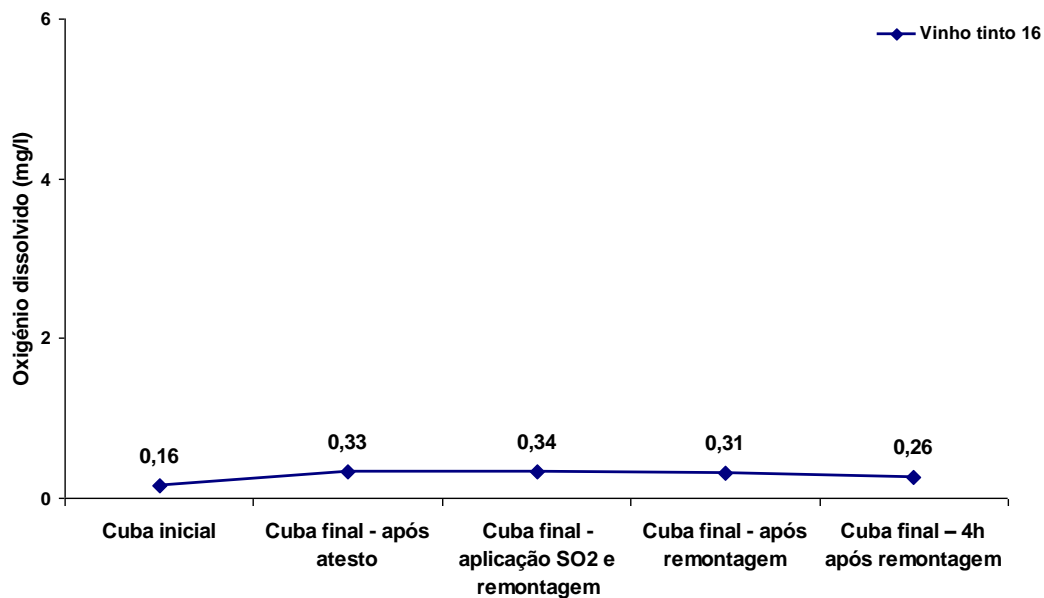
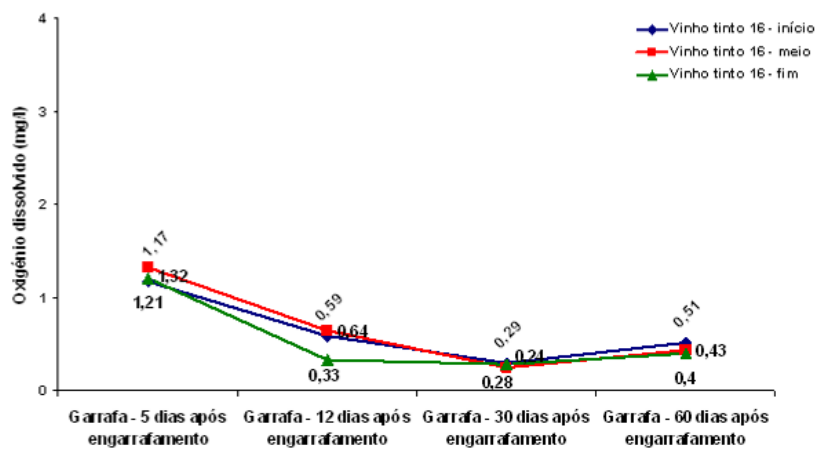


Fig. B. 11 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido nas operações que antecedem o engarrafamento de vinho tinto 16.



Início	SO2 Livre (mg/L)	32	30	31	26
	SO2 Total (mg/L)	82	78	75	75
Meio	SO2 Livre (mg/L)	35	30	31	29
	SO2 Total (mg/L)	80	70	78	70
Fim	SO2 Livre (mg/L)	32	30	30	30
	SO2 Total (mg/L)	75	78	80	80

Fig. B. 12 – Gráfico com variação de oxigenio dissolvido e dióxido de enxofre livre e total medidos 5, 12, 30 e 60 dias após o engarrafamento, na fase inicial, de vinho tinto 16.